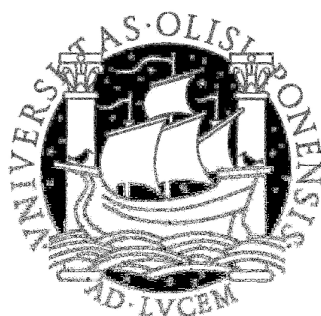


Universidade de Lisboa
Faculdade de Medicina Dentária



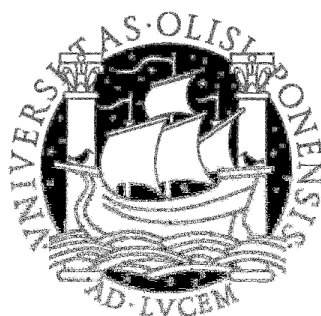
**Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais
e de um Colutório com Delmopinol
nas Bactérias da Placa Bacteriana**

Henrique Pedro Soares Luís

Doutoramento em
Ciências e Tecnologias da Saúde

2010

Universidade de Lisboa
Faculdade de Medicina Dentária



**Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais
e de um Colutório com Delmopinol
nas Bactérias da Placa Bacteriana**

Tese orientada pelo Prof. Doutor Mário Filipe Bernardo

Henrique Pedro Soares Luís

Doutoramento em
Ciências e Tecnologias da Saúde
2010

Dissertação de candidatura ao Grau de Doutor,
apresentada à Faculdade de Medicina Dentária da
Universidade de Lisboa (Ramo de Ciências e
Tecnologias da Saúde – Especialidade de Higiene
Oral)

Índice

Índice	I
Índice de Figuras	VII
Índice de Tabelas.....	XI
Agradecimentos	XV
Resumo	XVII
Abstract.....	XIX
Abreviaturas.....	XXI
Palavras-chave	XXIII
Keywords	XXIII
Capítulo I - Introdução	1
1. O biofilme oral – a placa bacteriana	2
1.1 Estrutura e formação	3
1.2 A saliva na formação da placa bacteriana.....	7
2. Consequências da placa bacteriana.....	8
2.1 A doença periodontal.....	10
2.1.1 Etiologia da doença periodontal	13
2.1.2 Prevenção da doença periodontal.....	14
2.2 A cárie dentária	14
2.2.1 Etiologia da cárie dentária	16
2.2.1.1 A dieta e a cárie dentária	17
2.2.1.2 A microflora oral e a cárie dentária	19
2.2.2 Prevenção da cárie dentária.....	22
2.2.2.1 A educação para a saúde oral	22
2.2.2.2 O flúor	24
3. Controlo da placa bacteriana.....	26
3.1 Controlo mecânico da placa bacteriana	26
3.1.1 A escovagem.....	26
3.1.2 A higiene interproximal	27
3.1.3 O controlo profissional.....	29
3.2 Controlo químico da placa bacteriana	29
3.2.1 Os dentífricos	31

*Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas
Bactérias da Placa Bacteriana*

3.2.2 Os elixires e colutórios orais.....	32
3.2.2.1 Antissépticos.....	35
3.2.3 A utilização de óleos essenciais e delmopinol.....	41
3.2.3.1 Os óleos essenciais	42
3.2.3.2 O delmopinol	44
4. Métodos de estudo do efeito de elixires e colutórios antissépticos na cavidade oral.....	47
4.1 Avaliação laboratorial	48
4.2 Avaliação clínica.....	49
4.2.1 Índices de placa bacteriana.....	51
4.2.2 Índices gengivais	55
Capítulo II - Objectivos.....	61
Capítulo III - Estudos Realizados.....	63
1. Estudo Laboratorial I	63
1.1 Objectivos.....	63
1.2 Materiais e Métodos	65
1.2.1 Métodos de colheita, preparação e isolamento dos espécimes	66
1.2.1.1 Colheita de amostras	68
1.2.1.2 Preparação dos espécimes – dispersão das amostras...69	
1.2.1.2.1 Preparação dos espécimes – diluição das amostras ...70	
1.2.1.3 Isolamento de espécimes - <i>Streptococcus mutans</i>72	
1.2.1.3.1 Cultura em meio selectivo	72
1.2.1.3.2 Identificação por testes bioquímicos	76
1.2.1.3.2.1 Teste de fermentação de manitol.....76	
1.2.1.3.2.2 Teste de reacção hemolítica	78
1.2.1.3.2.3 Teste da catalase.....79	
1.2.1.3.2.4 Teste de coloração de Gram.....80	
1.2.1.4 Isolamento de espécimes – <i>Lactobacillus</i>81	
1.2.1.4.1 Cultura em meio selectivo	81
1.2.1.5 Isolamento de espécimes - bactérias aeróbias e anaeróbias	83

1.2.1.5.1 Cultura em meio não selectivo	83
1.2.2 Metodologia de determinação da concentração mínima inibitória, por meio de discos de difusão:.....	85
1.2.2.1 Teste de concentração mínima inibitória.....	85
1.2.2.1.1 Preparação do meio de cultura	86
1.2.2.1.2 Preparação das placas de Petri	87
1.2.2.1.3 Cultivo bacteriano e colocação dos discos de difusão	88
1.2.2.1.4 Leitura dos resultados de inibição de crescimento.....	89
1.2.3 Determinação da concentração mínima inibitória.....	90
1.2.4 Metodologia da análise dos dados	91
1.3 Resultados.....	91
1.4 Discussão	92
1.5 Conclusões.....	93
2. Estudo Laboratorial II	95
2.1 Objectivos.....	95
2.2 Materiais e métodos	99
2.2.1 Produtos testados.....	100
2.2.2 Métodos de colheita, isolamento e preparação dos espécimes	101
2.2.2.1 Cultivo bacteriano e colocação dos discos de difusão	101
2.2.2.2 Leitura dos resultados de inibição de crescimento.....	102
2.2.3 Descrição das variáveis.....	102
2.2.3.1 Variáveis independentes	102
2.2.3.2 Variável dependente	102
2.2.4 Métodos de tratamento e análise de dados.....	103
2.3 Resultados.....	104
2.3.1 Avaliação da eficácia dos produtos em teste na inibição de crescimento de colónias de <i>Streptococcus mutans</i> , de <i>Lactobacillus</i> , de bactérias aeróbias e de bactérias anaeróbias.	105
2.3.2 Avaliação de inibição de crescimento bacteriano de <i>Streptococcus mutans</i> , de <i>Lactobacillus</i> , de bactérias aeróbias e de bactérias anaeróbias de uma solução hidro-alcoólica de concentração	

*Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas
Bactérias da Placa Bacteriana*

igual à existente no elixir com óleos essenciais e no colutório à base de delmopinol	106
2.4 Discussão	107
2.5 Conclusões	109
3. Ensaio Clínico I.....	111
3.1 Objectivos.....	111
3.2 Materiais e Métodos	116
3.2.1 Selecção de participantes no ensaio clínico.....	117
3.2.2 Distribuição de participantes pelos grupos experimentais.....	118
3.2.3 Procedimento laboratorial.....	120
3.2.3.1 Método de contagem de unidades formadoras de colónias	121
3.2.4 Procedimento clínico	122
3.2.5 Descrição das variáveis.....	123
3.2.5.1 Variáveis de identificação demográfica.....	123
3.2.5.2 Variável independente.....	123
3.2.5.3 Variáveis dependentes.....	124
3.2.6 Metodologia estatística na análise dos dados	126
3.3 Resultados.....	128
3.3.1 Resultados da componente laboratorial	130
3.3.1.1 Avaliação da eficácia do elixir/colutório na inibição de formação de colónias de <i>Streptococcus mutans</i> e <i>Lactobacillus</i> , em CFU.....	130
3.3.1.1.1 Comparação dos grupos experimentais.....	132
3.3.1.2 Avaliação da eficácia do elixir/colutório na inibição de formação de colónias de bactérias aeróbias e anaeróbias, em CFU	134
3.3.1.2.1 Comparação dos grupos experimentais de tratamento..	136
3.3.2 Resultados da componente clínica.....	137
3.3.2.1 Avaliação dos dados de <i>baseline</i>	137
3.3.2.2 Avaliação dos dados após o período experimental.....	139
3.4 Discussão	143

3.5 Conclusões.....	149
4. Ensaio Clínico II.....	153
4.1 Objectivos.....	153
4.2 Materiais e Métodos	154
4.2.1 Selecção dos participantes.....	154
4.2.2 Atribuição do grupo experimental.....	156
4.2.3 Recolha de dados.....	157
4.2.4 Descrição das variáveis.....	158
4.2.5 Metodologia estatística na análise dos dados.....	160
4.3 Resultados.....	161
4.3.1 Caracterização da amostra	162
4.3.2 Evolução dos valores dos índices gengivais e de acumulação de placa bacteriana para cada grupo experimental.....	162
4.3.3 Evolução dos valores dos índices gengivais e de acumulação de placa bacteriana interproximal para cada grupo experimental	164
4.3.4 Comparação entre os grupos experimentais dos valores iniciais dos índices de acumulação de placa bacteriana e de gengivite.....	166
4.3.5 Comparação entre os grupos experimentais dos valores dos índices gengivais e de acumulação de placa bacteriana após o período experimental.....	168
4.4 Discussão	170
4.5 Conclusões.....	173
5. Estudo Descritivo.....	175
5.1 Objectivos.....	175
5.2 Material e Métodos	177
5.2.1 Questionário	177
5.2.2 Amostragem	179
5.2.3 Descrição das variáveis.....	179
5.2.3.1 Variáveis de caracterização da amostra	179
5.2.3.2 Variável independente.....	181
5.2.3.3 Variáveis dependentes.....	181
5.2.4 Metodologia estatística na análise dos dados	184
5.3 Resultados.....	185

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

5.3.1 Caracterização da amostra total.....	185
5.3.1.1 Caracterização da amostra total - Cruzamento por sexo ..	189
5.3.1.2 Caracterização da amostra total - Cruzamento por grupo etário	192
5.3.2 Avaliação do uso do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol	195
5.3.2.1 Avaliação da percepção sensorial do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol.....	195
5.3.2.2 Avaliação da percepção de imagem/efeito após o uso do elixir/colutório	199
5.3.2.3 Avaliação da facilidade de uso de elixir/colutório	201
5.3.3 Avaliação do consumo de alimentos com potencial cariogénico	202
5.4 Discussão	204
5.5 Conclusões.....	207
Capitulo IV - Considerações Finais.....	211
Bibliografia	215
Apêndice 1 Consentimentos Informados	233
Apêndice 2 Folhas de registo dos dados	249
Apêndice 3 Questionário do estudo descritivo	257
Apêndice 4 <i>Outputs</i> do programa SPSS da análise de dados.....	263

Índice de Figuras

Figura 1 – Elixir com óleos essenciais, Listerine menta fresca.....	44
Figura 2 – Decapinol, colutório com delmopinol.	45
Figura 3 – Exemplo de inibição de crescimento bacteriano em torno dos discos de papel.....	49
Figura 4: Critérios do índice de placa bacteriana de Quigley e Hein (1962), modificado por Turesky <i>et al.</i> (1970).....	53
Figura 5 – Panorâmica do Laboratório de Microbiologia do Instituto Piaget de Almada.....	66
Figura 6 - Representação esquemática do processo de colheita, preparação e isolamento dos espécimes.....	67
Figura 7: BBL™ CultureSwab Plus™. Courtesy and © Becton, Dickinson and Company.	68
Figura 8 – Vórtex para dispersão das amostras bacterianas.....	70
Figura 9 – Pipeta laboratorial.....	71
Figura 10 – Placas de Petri para a sementeira das amostras bacterianas....	71
Figura 11 – Meio específico para <i>Streptococcus</i> , Agar Mitis Salivarius.....	72
Figura 12 – Agitador magnético com aquecimento.....	73
Figura 13 – Termóstato de imersão em aparelho de banho-maria.....	73
Figura 14 – Balança de precisão Gravimetrics XT 220A.....	74
Figura 15 – Jarras de anaerobiose.....	75
Figura 16 – Incubadora Incudigit para placas de Petri.....	75
Figura 17 – Exemplo de repicagem pelo método de estria em quadrante.....	77
Figura 18 – Placas de Petri com o Agar de Sal de Manitol, antes e após fermentação.....	78
Figura 19 – Hemólise no meio Columbia Agar com 5% de sangue de carneiro	79
Figura 20 – Meio específico para <i>Lactobacillus</i> , Agar Rogosa SL.....	82
Figura 21 – Meio genérico, <i>Brain Heart Infusion Agar</i>	84
Figura 22 – Meio de cultura nutritivo, <i>Nutrient Broth</i>	86

Figura 23 – Exemplo de marcação das placas de Petri para a realização do teste de concentração mínima inibitória.....	88
Figura 24 – Procedimento de diluição sucessiva do produto experimental ...	89
Figura 25 – Exemplo de um halo de inibição de crescimento bacteriano	90
Figura 26 – Exemplo de placa de Petri com halos de inibição de crescimento bacteriano	90
Figura 27 - Exemplo de não inibição de crescimento bacteriano pela água destilada esterilizada	104
Figura 28 – Vista geral da clínica de higiene oral da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa	120
Figura 29 – Contador de Unidade de Formadoras de Colónias (Suntex – Colony counter 570, Taiwan).	122
Figura 30: Distribuição, em percentagem, da amostra total organizada por grupo etário.....	129
Figura 31: Evolução dos índices gengivais e de acumulação de placa bacteriana, para os dois grupos experimentais, ao longo do ensaio clínico.	163
Figura 32: Evolução dos índices gengivais e de acumulação de placa bacteriana interproximais, para os dois grupos experimentais, ao longo do ensaio clínico.	165
Figura 33: Distribuição por grupo etário, em percentagem, da amostra total.	186
Figura 34: Distribuição, em percentagem, da reacção inicial da amostra total a um elixir / colutório novo	187
Figura 35: Distribuição, em percentagem, da intenção de continuação de uso de um elixir / colutório novo	188
Figura 36: Distribuição por grupo etário, em percentagem, do género na amostra total	189
Figura 37: Distribuição por grupo etário, em percentagem, da escolaridade na amostra total	190
Figura 38: Distribuição por género, em percentagem, da atitude perante um novo produto de higiene oral, na amostra total.....	191

Figura 39: Distribuição por grupo etário, em percentagem, da escolaridade, na amostra total.	192
Figura 40: Distribuição por grupo etário, em percentagem, do cumprimento do protocolo de estudo – realização diária do bochecho - na amostra total	193
Figura 41: Distribuição por grupo etário, em percentagem, da intenção em continuar a utilizar o elixir/colutório após o período experimental - na amostra total	194
Figura 42 - Distribuição de medianas de respostas às afirmações da dimensão percepção sensorial do elixir/colutório da variável dependente avaliação do elixir/colutório.....	196
Figura 43 - Distribuição de medianas de respostas às afirmações da dimensão percepção de imagem/efeito após uso do elixir/colutório.	199
Figura 44 - Distribuição de medianas de respostas às afirmações da dimensão facilidade de uso do elixir/colutório da variável dependente avaliação do elixir/colutório.....	201
Figura 45: Distribuição, em percentagem, dos alimentos com maior frequência de consumo pela amostra total.	203
Figura 46: Distribuição, em percentagem, dos alimentos com menor frequência de consumo, pela amostra total	204

*Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas
Bactérias da Placa Bacteriana*

Índice de Tabelas

Tabela 1: Versão abreviada da classificação de 1999 AAP das condições e doenças periodontais (Wiebe e Putnins, 2000).....	11
Tabela 2 – Critérios do índice de placa bacteriana de Quigley e Hein (1962), modificado por Turesky et al. (1970).....	53
Tabela 3 – Critérios do índice gengival de Løe & Silness (Wilkins, 2005)	56
Tabela 4 - Classificação de saúde gengival pelo índice gengival de Løe & Silness (Wilkins, 2005).....	56
Tabela 5 – Critério do Índice Gengival Modificado de Lobene <i>et al.</i> (1986)...	58
Tabela 6 – Critérios do Índice de Hemorragia de Saxton & Ouderaa. (1989)	58
Tabela 7 – Número de amostras observadas por tipo de bactérias, para cada produto testado.	90
Tabela 8 - Concentração mínima dos produtos experimentais necessária para a inibição de crescimento de <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Lactobacillus</i> , bactérias aeróbias e anaeróbias pelo método de difusão em disco.	92
Tabela 9 – Variável dependente e respectiva escala de mensuração	103
Tabela 10 – Número de espécimes (n) observados para cada tipo de bactérias, por produto testado.	104
Tabela 11 – Valores médios em mm de halos de inibição de crescimento de colónias e valor de <i>p</i>	105
Tabela 12 – Valor de <i>p</i> para diferenças estatísticas entre tratamentos	105
Tabela 13 – Valores médios, em mm, de halos de inibição para a solução hidro-alcoólica de concentração igual ao elixir e valor de <i>p</i>	106
Tabela 14 – Valores médios, em mm, de halos de inibição para a solução hidro-alcoólica de concentração igual ao colutório e valor de <i>p</i>	107
Tabela 15 - Critérios de exclusão e inclusão do ensaio clínico I.....	117
Tabela 16 – Variáveis de identificação e respectiva escala.....	123
Tabela 17 – Variável independente e respectiva escala.....	124
Tabela 18 – Variáveis dependentes da componente laboratorial e respectiva escala	125
Tabela 19 – Variáveis dependentes da componente clínica e respectiva escala	126

Tabela 20 – Contagem média de CFU de <i>Streptococcus mutans</i> , percentagem de redução e valor de p para a diferença entre contagens.	131
Tabela 21 – Contagem média de CFU de <i>Lactobacillus</i> , percentagem de redução e valor de p para a diferença entre contagens.....	131
Tabela 22 – Comparação entre grupos de estudo para unidades formadoras de colónias, iniciais, de <i>Streptococcus mutans</i> e <i>Lactobacillus</i> , valores em logaritmos, e valor de p para diferença estatística.....	132
Tabela 23 – Comparação entre grupos de estudo para unidades formadoras de colónias de <i>Streptococcus mutans</i> e <i>Lactobacillus</i> finais, valores em logaritmos, e valor de p para diferença estatística.....	133
Tabela 24 – Valores médios de unidades formadoras de colónias e de p obtidos nos testes de avaliação de diferenças de contagens de CFU para bactérias supra e subgingivais, aeróbias e anaeróbias, para o grupo de controlo.	134
Tabela 25 – Valores de p obtidos nos testes de avaliação de diferenças de contagens de CFU para bactérias supra e subgingivais, aeróbias e anaeróbias, para o grupo experimental oo elixir com óleos essenciais	135
Tabela 26 – Valores de p obtidos nos testes de avaliação de diferenças de contagens de CFU para bactérias supra e subgingivais, aeróbias e anaeróbias, para o grupo experimental com o colutório à base de delmopinol.	135
Tabela 27 – Comparação entre grupos de estudo para unidades formadoras de colónias de bactérias supra e subgingivais, aeróbias e anaeróbias, em baseline, valores em logaritmos e valor de p para a diferença.	136
Tabela 28 – Comparação entre grupos de estudo para unidades formadoras de colónias de bactérias supra e subgingival, aeróbia e anaeróbia, após período experimental, valores em logaritmos e valor de p para a diferença.	137
Tabela 29: Comparação das variáveis demográficas, em <i>baseline</i> , entre os grupos experimentais e significância estatística.	138

Tabela 30: Valor médio (desvio padrão) das variáveis dependentes, em <i>baseline</i> , e significância estatística de comparação entre grupos experimentais.....	138
Tabela 31: Valores médios e de erro padrão das variáveis dependentes, após uso do elixir e do colutório pelo período experimental de 2 semanas.....	140
Tabela 32: Percentagem e valor de <i>p</i> de redução do índice gengival de Løe & Silness, após o período experimental de 2 semanas.	140
Tabela 33: Percentagem e valor de <i>p</i> de redução do índice de placa bacteriana, após o período experimental de 2 semanas.	141
Tabela 34: Diferenças entre os grupos experimentais e o grupo controlo, após o período experimental de 2 semanas em percentagem de redução e valor de <i>p</i>	142
Tabela 35: Redução percentual do índice de placa bacteriana e gengivite em estudos com o uso de óleos essenciais.....	146
Tabela 36: Redução percentual do índice de placa bacteriana e gengivite em estudos de longa duração com o uso de delmopinol.....	148
Tabela 37 - Critérios de exclusão e inclusão do Ensaio Clínico II.....	155
Tabela 38 – Variáveis de identificação e respectiva escala.....	158
Tabela 39 – Variável independente e respectiva escala.....	159
Tabela 40 – Variáveis dependentes e respectiva escala.....	160
Tabela 41: Distribuição de idade e género por grupo experimental e valor de <i>p</i> para diferença entre grupos experimentais.....	162
Tabela 42: Percentagens de redução dos índices gengivais e de placa bacteriana obtidos em <i>baseline</i> e 2 semanas após o início do ensaio clínico	163
Tabela 43: Significância estatística das diferenças dos índices gengivais e de placa bacteriana obtidos em <i>baseline</i> e 2 semanas após o início do estudo.	164
Tabela 44: Percentagens de redução dos índices gengivais e de placa bacteriana interproximais obtidos em <i>baseline</i> e 2 semanas após o início do ensaio clínico	165

Tabela 45: Significância estatística das diferenças dos índices gengivais e de placa bacteriana interproximal obtidos em baseline e 2 semanas após o início do estudo.	166
Tabela 46: Valores dos índices gengivais e de placa bacteriana obtidos na consulta de baseline e valor de p para diferença entre grupos experimentais.	167
Tabela 47: Valores dos índices gengivais e de placa bacteriana interproximais obtidos na consulta de baseline e valor de p para diferença entre grupos experimentais.....	167
Tabela 48: Valores dos índices gengivais e de placa bacteriana obtidos na segunda consulta e valor de p para diferença entre grupos experimentais.	168
Tabela 49: Valores dos índices gengivais e de placa bacteriana interproximais obtidos na segunda consulta e valor de p para diferença entre grupos experimentais.	169
Tabela 50 – Variável independente e respectiva escala.....	181
Tabela 51 – Distribuição da amostra, n e percentagem, por escolaridade ..	186
Tabela 52 – Comparação das medianas das respostas da dimensão de percepção sensorial.	197

Agradecimentos

Este trabalho só foi possível com o apoio e a amizade de muitas pessoas, às quais expresso o meu sincero agradecimento.

Um especial agradecimento ao Professor Doutor Mário Filipe Bernardo, pela sua amizade, orientação científica, inteira e permanente disponibilidade e incentivo.

À Faculdade de Medicina Dentária pelo apoio e total disponibilidade que me permitiu realizar a difícil tarefa de conciliar a elaboração deste trabalho com o desempenho das actividades lectivas no Curso de Higiene Oral.

Ao Instituto Piaget pelo apoio e disponibilidade dados ao desenvolvimento deste trabalho, em especial à Presidente do Campus Universitário de Almada, Professora Doutora Anabela Raymundo.

Às técnicas de laboratório do Instituto Piaget, Maria Graça Soares e Catarina Atalaia pelos ensinamentos e disponibilidade para apoio ao desenvolvimento dos trabalhos no Laboratório de Microbiologia.

Aos estagiários Hélio Henrique do Curso Técnico de Processamento e Controlo da Qualidade Alimentar da Escola Profissional Agrícola D. Diniz, Paiã e Inácia Gaspar da Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica pelo apoio ao desenvolvimento dos trabalhos no Laboratório de Microbiologia.

Ao Higienista Oral Edir Barreto pela colaboração e apoio nas actividades clínicas deste trabalho.

Aos meus colegas da Faculdade de Medicina Dentária, Carla Balseiro, Cristina Alves, Fátima Bizarra, Inês Oliveira Pinto, Lurdes Vaz, Sandra

*Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas
Bactérias da Placa Bacteriana*

Ribeiro, Teresa Albuquerque e Victor Assunção pelo apoio, amizade e colaboração no desenvolvimento deste trabalho.

Ao meu irmão Luís Soares Luís, pelo apoio e ajuda.

Às empresas Colgate-Palmolive, Inibsa e Johnson & Johnson pela cedência de material distribuído pelos participantes dos ensaios clínicos realizados neste trabalho.

À minha família pelo apoio e carinho.

Finalmente, agradeço a todos os elementos, docentes e não docentes da Faculdade de Medicina Dentária e do Instituto Piaget que de alguma forma contribuíram para a concretização deste trabalho.

Resumo

Este trabalho de investigação teve por objectivo avaliar e comparar a eficácia de um elixir com óleos essenciais e de um colutório com delmopinol nas bactérias da placa bacteriana. Para tal foram realizados dois ensaios laboratoriais, dois ensaios clínicos e um estudo descritivo.

Dos ensaios laboratoriais concluiu-se que a concentração mínima inibitória do elixir e do colutório é inferior à concentração comercial dos mesmos, não existindo diferenças significativas entre o elixir, o colutório e a clorohexidina a 0,2% na inibição de crescimento de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* e bactérias anaeróbias. O colutório apresentou uma capacidade inibitória significativamente inferior ao elixir e à clorohexidina na inibição do crescimento de bactérias aeróbias.

Quando comparado com o seu conteúdo em etanol, foram observados resultados significativos para o elixir na inibição de *Lactobacillus* e para o colutório na inibição de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus*. Ambos os produtos não apresentaram resultados significativos na inibição de bactérias aeróbias e anaeróbias.

No primeiro ensaio clínico não se observaram diferenças significativas entre o elixir e o colutório na inibição das bactérias estudadas, assim como na de acumulação de placa bacteriana e na gengivite.

No segundo ensaio clínico não se observaram diferenças significativas entre o elixir e o fio dentário na redução da inflamação e hemorragia gengival e acumulação de placa bacteriana. Na avaliação interproximal observaram-se diferenças significativas, favoráveis ao elixir, na redução da acumulação de placa bacteriana.

O estudo descritivo permitiu observar que o colutório foi descrito como de mais fácil uso do que o elixir, com diferenças significativas a favor do elixir na percepção de um melhor hálito.

*Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas
Bactérias da Placa Bacteriana*

Como considerações finais devemos reconhecer que o elixir e o colutório são eficazes no controlo de bactérias da placa bacteriana e que o uso do elixir pode ser indicado aos pacientes com dificuldades na realização regular e eficaz do fio dentário.

Abstract

The main objective of this investigation was to evaluate and compare the efficacy on an essential oils and a delmopinol mouthrinses on bacteria from dental plaque. In order to achieve this goal, two laboratorial trials, two clinical trials and one descriptive study were developed.

From laboratorial trials results it is possible to state that the mouthrinses' minimum inhibitory concentration is inferior to the commercial concentration of the product. Also, there are no significant differences among essential oils, delmopinol and 0.2% chlorhexidine mouthrinses on growth inhibition of *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* and anaerobic bacteria. Delmopinol mouthrinse has a significantly lower inhibitory ability to prevent aerobic bacteria growth, when compared with essential oils and chlorhexidine mouthrinses.

When a comparison between the mouthrinses and its individual alcohol content was carried out, significant results were found, in favour of essential oils mouthrinse, for inhibition of *Streptococcus mutans* and for delmopinol mouthrinse for inhibition of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus*. Both commercial mouthrinses presented no significant results, comparing with its alcohol content, for growth inhibition of aerobic and anaerobic bacteria.

The first clinical trial showed no significant differences between the mouthrinses for study's bacteria inhibition as well as no differences on dental plaque accumulation and gingivitis.

The second clinical trial established no significant differences between essential oils mouthrinse and dental floss for reduction of gingival inflammation, bleeding and dental plaque accumulation. For interproximal evaluation, essential oils mouthrinse showed to be significantly better than dental floss in reducing dental plaque accumulation.

*Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas
Bactérias da Placa Bacteriana*

The descriptive study indicates that delmopinol mouthrinse was described as being more patient-friendly to usage, but the essential oils mouthrinse was indicated as promoting a cleaner breath.

As a final overview we recognize both mouthrinses as effective to control dental plaque and the use of essential oils mouthrinse may be advised to patients unable to floss effectively.

Abreviaturas

ADN - Ácido DesoxirriboNucleico

CPITN - Community Periodontal Index for Treatment Needs

ISO – International Organization for Standardization

ml - Mililitro

mm - Milímetro

ppm – Parte por milhão

spp.- Species

μm - Micrómetro

*Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas
Bactérias da Placa Bacteriana*

Palavras-chave

Ensaio clínico
Óleos essenciais
Delmopinol
Placa bacteriana
Gengivite

Keywords

Clinical study
Essential oils
Delmopinol
Dental plaque
Gingivitis

*Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas
Bactérias da Placa Bacteriana*

Capítulo I - Introdução

A cavidade oral é caracterizada por ser um ambiente onde ocorrem diversas interações entre microrganismos, estruturas e fluidos orais. Possui características de humidade e temperatura ideais para o desenvolvimento bacteriano, constituindo um ecossistema com mais de 700 espécies. Algumas destas, organizadas na forma de biofilme, possuem capacidade para colonizar as superfícies dentárias. Deste elevado número de bactérias somente cerca de 60% estão identificadas (Socransky e Haffajee, 2002).

Segundo Donlan (2002), um biofilme consiste numa associação de células microbianas, unidas de forma irreversível a uma superfície e envolvidas por uma matriz polimérica extracelular, composta principalmente por polisacáridos, que contribui para cerca de 50% a 90% do volume total do biofilme.

Os biofilmes desenvolvem-se em praticamente todos os locais onde haja superfícies húmidas (Socransky e Haffajee, 2002), sendo a sua unidade estrutural básica a colónia, que pode ser composta por uma única espécie ou por comunidades de várias espécies de bactérias, dependendo dos parâmetros ambientais que condicionam a sua formação (Davey e O'Toole, 2000).

A organização em biofilme proporciona protecção contra microrganismos competidores e contra mecanismos de defesa do ambiente ou do indivíduo (Socransky e Haffajee, 2002; Rodriguez-Martinez e Pascual, 2008). Esta protecção é realizada, principalmente, pela matriz de substância polimérica extracelular, produzida pelas bactérias, que possui o potencial de prevenir, fisicamente, o acesso de certos agentes antimicrobianos ao biofilme, restringindo a difusão iónica de componentes do meio ambiente para o seu interior (Socransky e Haffajee, 2002).

A relação existente entre o ambiente e a comunidade microbiana é bidireccional, ou seja, apesar de as características do meio ambiente estabelecerem o tipo de microrganismos que a compõem, o metabolismo dos microrganismos pode modificar as propriedades físicas e químicas do seu

habitat. Desta forma, na cavidade oral, as condições ecológicas dos locais onde se forma o biofilme, alteram-se durante o seu desenvolvimento (Socransky e Haffajee, 2002).

1. O biofilme oral – a placa bacteriana

O biofilme oral não é uma mistura aleatória das bactérias presentes na cavidade oral. A sua estrutura organizacional é complexa, heterogénea e dinâmica, contendo colónias rodeadas pela substância polimérica extracelular e separadas de outras colónias por espaços conhecidos por canais de água. Os canais de água distribuem-se por todo o biofilme como se de um sistema circulatório se tratasse (Davey e O'Toole, 2000). A circulação de fluidos ocorre nesses canais, permitindo a difusão de nutrientes, oxigénio e até de agentes antimicrobianos (Tolker-Nielsen e Molin, 2000; Jenkinson e Lamont, 2005).

O biofilme oral possui propriedades semelhantes a outros biofilmes existentes no organismo humano ou fora deste, sendo composto por um elevado número de diferentes espécies bacterianas (Axelsson, 2002).

No ambiente oral, as células bacterianas podem ser encontradas numa forma livre, sendo chamadas de bactérias planctónicas, ou organizadas formando o biofilme. De acordo com Axelsson (2002), está estimado que 1 ml de saliva contém cerca de 200 milhões de bactérias, este mesmo número de bactérias pode ser encontrado em somente 1mm³ de biofilme oral, ou seja, a densidade bacteriana é cerca de 1000 vezes maior no biofilme oral do que na saliva.

A boca possui diversas superfícies, algumas descamativas, tais como a mucosa oral, e outras não descamativas, como os dentes, originando a formação de biofilmes com características diferentes. Na maioria dos tecidos moles da cavidade oral não se dá uma acumulação significativa de biofilme, devido à velocidade de descamação das células superficiais. A excepção é o dorso da língua, que está associado a uma microflora característica e que

serve de reservatório para a constante colonização das superfícies dentárias e do sulco gengival (Liljemark *et al.*, 1997). Por seu lado, as superfícies duras dos dentes são um suporte muito mais estável para a colonização bacteriana (Spratt e Pratten, 2003).

Quando a formação do biofilme oral ocorre na superfície dentária é chamado de placa bacteriana. A placa bacteriana não é igual em todas as zonas do dente, podendo ser classificada de acordo com a sua localização. Existe, assim, a placa bacteriana supragengival, a placa bacteriana da margem gengival e a placa bacteriana subgengival (Spratt e Pratten, 2003).

Existem, ainda, diferenças na capacidade de acumulação de placa bacteriana originadas pelas características anatómicas do dente. De facto, as áreas interproximais facilitam a acumulação bacteriana, protegendo a placa bacteriana da remoção mecânica que ocorre, normalmente, na cavidade oral realizada pela mastigação, pelo fluxo salivar e pela realização das técnicas de higiene oral (Marsh, 2003).

As superfícies dentárias lisas, mais expostas ao ambiente, podem ser colonizadas por um número limitado de bactérias, que possuem características específicas para resistirem num ambiente tão difícil. As fissuras e fossetas proporcionam protecção e são ainda propícias à acumulação de restos alimentares, promovendo a disponibilidade de nutrientes para os organismos bacterianos (Marsh, 2003; Spratt e Pratten, 2003).

1.1 Estrutura e formação

A formação de um qualquer biofilme microbiano consiste, genericamente, em três fases onde se observam uma série de acontecimentos que evoluem desde a ligação inicial do microrganismo a uma superfície, passando pela formação de microcolónias e terminando na maturação das microcolónias num biofilme amadurecido, rodeado de substância polimérica extracelular (Davey e O'Toole, 2000; Baehni e Takeuchi, 2003; Kolenbrander *et al.*, 2006).

Na superfície dentária estas fases consistem em (Bowden e Li, 1997; Davey e O'Toole, 2000):

- (i) Ligação da película adquirida sobre o esmalte dentário;
- (ii) Adesão (ligações célula-superfície) dos colonizadores primários à película adquirida, e
- (iii) Interações célula-célula (reconhecimento e adesão entre bactérias geneticamente distintas) dos colonizadores posteriores para a formação das microcolónias e subsequente maturação da placa bacteriana.

As bactérias presentes na placa bacteriana possuem uma fisiologia diferente das que existem na cavidade oral na forma planctónica. Estão geralmente numa forma “dormente”, com o metabolismo reduzido por estarem num ambiente limitado na disponibilidade de nutrientes (ten Cate, 2006).

A interacção física entre bactérias geneticamente diferentes é fundamental para a formação da placa bacteriana. Quando estas interações ocorrem entre células na forma planctónica, o processo é chamado de co-agregação, sendo este fenómeno prevalente nas bactérias isoladas da cavidade oral e identificado somente neste ecossistema (Kolenbrander *et al.*, 1993). Quando as interações ocorrem entre células em suspensão e células bacterianas já aderidas na placa bacteriana, o processo denomina-se de co-adesão (Spratt e Pratten, 2003).

Os mecanismos de co-agregação e co-adesão são semelhantes e fundamentais para a formação da estrutura da placa bacteriana (Kolenbrander, 2000; Kolenbrander *et al.*, 2006).

A proximidade de células dentro da microcolónia, ou entre microcolónias, proporciona o ambiente ideal para a criação de trocas nutricionais, trocas de genes e de comunicação inter-bacteriana (Spratt e Pratten, 2003). Este processo de comunicação é denominado de *quorum sensing* (Podbielski e Kreikemeyer, 2004).

O *quorum sensing* consiste na regulação da expressão de genes, através da acumulação de “sinais” que vão mediar a comunicação intercelular. As bactérias segregam peptídeos para o meio extracelular. Quando há um aumento na concentração destes peptídeos, devido ao maior número de bactérias no local, estes ligam-se a receptores das bactérias, activando a transcrição de genes importantes para uma série de modificações fisiológicas que tornam as bactérias mais capazes de se adaptar a condições específicas, diferentes das que existiam antes da maturação do biofilme (Donlan, 2002; Socransky e Haffajee, 2002; Podbielski e Kreikemeyer, 2004; ten Cate, 2006; Dunny *et al.*, 2008).

A comunicação e o reconhecimento célula-célula de organismos geneticamente distintos desempenham um papel importante na formação de colónias e, subsequentemente, da estrutura da placa bacteriana. Este reconhecimento célula-célula pode ser intra-género, inter-género ou multi-género, ocorrendo tanto em células viáveis (vivas) como em células mortas. Este facto indica que o reconhecimento entre células bacterianas depende da existência de moléculas específicas na superfície da membrana celular e não da viabilidade celular (Kolenbrander *et al.*, 1993).

Como referido anteriormente, a colonização bacteriana das superfícies dentárias inicia-se pela adesão dos microrganismos à película adquirida, o que proporciona uma nova superfície adequada à aderência de outros microrganismos (Kolenbrander *et al.*, 1993).

A película adquirida é uma camada acelular constituída por proteínas salivares e outras macromoléculas adsorvidas à superfície do esmalte dentário. Possui uma espessura que, dependendo da abrasão da superfície dentária, varia entre os 2 e os 10 μm e forma a base necessária para uma posterior adesão de bactérias que darão origem à placa bacteriana (Axelsson, 2002).

As proteínas salivares, tais como a amilase, a lisozima e a peroxidase, além de mucinas e produtos bacterianos presentes na saliva, desempenham um papel fundamental na formação da matriz da película adquirida (Axelsson, 2002). Alguns componentes salivares que compõem esta película promovem

a adesão bacteriana, nomeadamente as glicoproteínas (proteínas ricas em prolina) e a estaterina (Liljemark *et al.*, 1997).

As bactérias que iniciam a colonização da película adquirida salivar, principalmente cocos Gram-positivos, podem provir da fase planctónica ou do crescimento e multiplicação celular dos microrganismos já estabelecidos na mucosa da cavidade oral e na língua (Bowden e Li, 1997; Bernimoulin, 2003).

Os colonizadores primários são principalmente da espécie *Streptococcus* (60% a 90%) podendo também ser encontrados *Eikenella* spp., *Haemophilus* spp., *Prevotella* spp., *Capnocytophaga* spp., *Priopionibacterium* spp., e *Veillonella* spp.. Os colonizadores secundários são *A. Actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermédia*, *Eubacterium* spp., *Treponema* spp. e *Porphyromonas gingivalis*. O *Fusobacterium nucleatum* serve de elemento intermédio entre os colonizadores primários e os secundários (Kolenbrander *et al.*, 1993; ten Cate, 2006).

O metabolismo dos colonizadores primários, anaeróbios facultativos, empobrece o ambiente de oxigénio, enriquecendo-o em dióxido de carbono e hidrogénio (acidificação) criando um ambiente mais propício às bactérias anaeróbias, como são a maioria dos colonizadores secundários (Marsh, 2003).

Baseado no conhecimento actual da microbiologia da placa bacteriana, pode ser afirmado que a microflora supragengival é dominada pelas bactérias Gram-positivas, incluindo *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivarius* e *Lactobacilli*. A microflora subgengival é composta principalmente por bactérias Gram-negativas anaeróbias tais como a *Aggregatibacter* (*Actinibacillus*) *actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Campylobacter* spp., *Capnocytophaga* spp., *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* e espiroquetas orais tais como o *Treponema denticola* (Kuramitsu *et al.*, 2007).

Algumas destas bactérias possuem características que se revelam patogénicas e estão relacionadas com a etiologia das doenças orais mais

comuns, por exemplo, a placa bacteriana supragengival é um componente essencial na etiologia da cárie dentária, pois possui a capacidade de metabolizar os hidratos de carbono fermentescíveis provenientes da dieta (Axelsson, 2000).

1.2 A saliva na formação da placa bacteriana

A saliva consiste numa mistura complexa de fluidos que tem como função humidificar a superfície da mucosa oral, permitindo a deglutição, a fonação e a digestão inicial do bolo alimentar por acção enzimática. É uma solução aquosa de várias substâncias de diferente peso molecular sendo constituída em 99% por água (Edgar, 1992).

A saliva desempenha um papel fundamental na manutenção do equilíbrio fisiológico e na saúde da cavidade oral, assim como de todo o organismo (Amerongen e Veerman, 2002) e, devido aos seus componentes, é essencial na formação da placa bacteriana (Liljemark *et al.*, 1997).

Os componentes orgânicos da saliva (glicoproteínas e proteínas) podem influenciar a colonização e selecção da microflora oral e servir de nutriente endógeno para as bactérias da cavidade oral (Marsh, 2003).

A saliva possui proteínas salivares (componente não imunológico) na forma de enzimas, glicoproteínas, aglutininas, histatinas, proteínas ricas em prolina, estaterina e citastinas (Liljemark *et al.*, 1997).

Das enzimas destacam-se (Axelsson, 2000): i) a lisozima pela sua capacidade em hidrolisar a parede celular de algumas bactérias e, sendo catiónica, pode activar a autólise bacteriana; ii) a lactoferrina que se une ao ferro disponível na saliva causando efeitos bacteriostáticos e bactericidas para vários microrganismos que necessitam de ferro para a sua sobrevivência, tais como os *Streptococcus mutans*; iii) a sialoperoxidase que possui actividade antimicrobiana uma vez que serve de catalisador à oxidação do ião tiocianato salivar resultando num potente antibacteriano

As proteínas ricas em prolina e estaterina inibem a precipitação de sais de fosfato de cálcio e o crescimento dos cristais de hidroxiapatite na

superfície dentária, prevenindo a formação de cálculos salivares e dentários. De entre estas realçam-se:

- (i) a citastina, relacionada com a formação da película adquirida e o equilíbrio dos cristais de hidroxiapatite e
- (ii) a histatina que possui actividade antimicrobiana muito eficaz contra os *Streptococcus mutans* e inibe a hemoaglutinação da *Porphyromonas gingivalis* (Axelsson, 2000).

A aglutinina salivar é um dos componentes salivares responsáveis pela aglutinação das bactérias orais.

O componente imunológico presente em maior quantidade na saliva é a imunoglobulina A, com capacidade para neutralizar vírus e bactérias. Serve de anticorpo para antigénios bacterianos e adere às bactérias impedindo a sua adesão aos tecidos orais. Outros componentes imunológicos, tais como a imunoglobulina G e imunoglobulina M, ocorrem em menores quantidades e têm, provavelmente, origem no fluido gengival (Axelsson, 2002).

A saliva funciona ainda como um sistema tampão, protegendo a cavidade oral, pois neutraliza os ácidos resultantes do metabolismo bacteriano, evitando que microrganismos patogénicos encontrem um ambiente ideal para a sua colonização e prevenindo a desmineralização do esmalte dentário (Osório *et al.*, 2000; de Almeida *et al.*, 2008).

Como instrumento de diagnóstico é de fácil utilização, uma vez que é facilmente acessível e o processo de recolha de amostras salivares não é invasivo para o indivíduo, permitindo não só identificar problemas orais e de saúde geral, como também acompanhar o seu desenvolvimento ou processo de tratamento (Streckfus e Bigler, 2002).

2. Consequências da placa bacteriana

A presença da placa bacteriana está relacionada com o surgimento da cárie dentária e a doença periodontal, as doenças orais mais comuns.

Ao longo do tempo foram formuladas diversas hipóteses que indicavam a placa bacteriana como factor etiológico das doenças orais. Loesche em 1986, propôs a hipótese de existir uma placa bacteriana específica para as doenças orais, atribuindo a sua patogenicidade a um número particular e limitado de agentes patogénicos. A vantagem desta hipótese consistia em permitir focar a investigação no controlo de espécies específicas de forma a prevenir as doenças (Loesche, 1986).

Theilade em 1986 formulou a hipótese de uma placa bacteriana não específica para o desenvolvimento das doenças orais e Marsh, em 1994, postulou que as alterações ambientais, em particular os níveis elevados de hidratos de carbono fermentescíveis, seriam a causa do crescimento dos microrganismos responsáveis pelas patologias orais (ten Cate, 2006). Esta última hipótese refere que as doenças orais resultam da interacção de todos os grupos de bactérias da cavidade oral, reconhecendo o facto de que a placa bacteriana é uma comunidade de diferentes bactérias. Mesmo admitindo que a etiologia das doenças orais não é totalmente específica de uma espécie bacteriana, existem evidências de especificidade, pois um grupo limitado de bactérias surge associado, de forma consistente, com as doenças orais (ten Cate, 2006).

A microflora da placa bacteriana de locais onde se desenvolve doença é muito distinta da microflora de locais saudáveis, apesar dos mesmos microrganismos patogénicos poderem ser encontrados, em baixo número, nos locais saudáveis. Pequenas alterações no ambiente, que originem mudanças na composição da placa bacteriana, podem predispor para o surgimento de espécies bacterianas mais patogénicas com alterações que resultam no surgimento das doenças orais (Spratt e Pratten, 2003).

Na cárie dentária tais alterações são caracterizadas por um predomínio de bactérias Gram-positivas, acidogénicas e tolerantes a ácidos, como por exemplo os *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus*, em vez das espécies bacterianas sensíveis ao ácido, associadas ao esmalte saudável. Na doença periodontal observa-se o aumento do número de espécies estritamente anaeróbicas, incluindo espécies proteolíticas Gram-negativas (Marsh, 2003).

2.1 A doença periodontal

O termo doença periodontal é geralmente utilizado para caracterizar as alterações inflamatórias, denominadas de gengivite e de periodontite, que são provocadas pela microflora patogénica presente na cavidade oral (Pihlstrom e Tabak, 2005). Estas alterações inflamatórias têm muitas propriedades em comum com outras infecções mas possuem, também, características únicas originadas pelo local de colonização bacteriana e pela natureza do ambiente onde se desenvolvem. A placa bacteriana subgengival é mais complexa do que a placa bacteriana supragengival, por estar associada ao dente e ao tecido conjuntivo (Socransky e Haffajee, 2002; Haffajee *et al.*, 2006).

No âmbito do sistema de classificação da doença periodontal da *American Academy of Periodontology*, em 1999, a gengivite representa um espectro de doenças cujo início está geralmente associado à presença de bactérias, existindo no entanto, outras formas de gengivite não directamente relacionadas com a placa bacteriana (Wiebe e Putnins, 2000).

A gengivite é a forma mais ligeira de doença periodontal, sendo reversível pela aplicação de medidas simples e efectivas de higiene oral. Quando o processo inflamatório provoca a perda de inserção epitelial do periodonto e a consequente formação de bolsas periodontais, inicia-se a periodontite que pode, em extremo, resultar na perda dentária (Pihlstrom *et al.*, 2005).

A existência de doença periodontal está associada ao aumento da acumulação de placa bacteriana junto à margem gengival, que desencadeia uma resposta inflamatória por parte do hospedeiro, incluindo um aumento do fluxo do fluido crevicular. Quando se observa a formação de bolsas periodontais, são encontrados elevados números de bactérias estritamente anaeróbias, incluindo espécies proteolíticas, especialmente dos géneros *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium* e *Treponema* (Marsh, 2003).

A classificação abreviada das doenças periodontais, elaborada pela *American Academy of Periodontology* pode ser observada na Tabela 1, adaptada de Wiebe e Putnins (2000):

I.	Doenças Gingivais A. Doenças gengivais provocadas pela placa bacteriana B. Lesões gengivais não provocadas pela placa bacteriana
II.	Periodontite Crônica (ligeira: 1-2 mm perda de inserção (PI); moderada 3-4 mm de PI; severa > 5mm de PI) A. Localizada B. Generalizada (> 30% dos locais envolvidos)
III.	Periodontite Agressiva (ligeira: 1-2 mm perda de inserção (PI); moderada 3-4 mm PI; severa > 5mm PI) A. Localizada B. Generalizada (> 30% dos locais envolvidos)
IV.	Periodontite como manifestação de doenças sistêmicas A. Associada a alterações hematológicas B. Associada a alterações genéticas C. Não especificada
V.	Doenças Periodontais Necrosantes A. Gingivite ulcerativa necrotizante B. Periodontite ulcerativa necrotizante
VI.	Abcessos do Periodonto A. Abscesso gengival B. Abscesso periodontal C. Abscesso peri-coronal
VII.	Periodontite associada a lesões endodônticas A. Lesões combinadas endo-periodontais
VIII.	Condições ou deformidades adquiridas ou de desenvolvimento A. Factores localizados relacionados com o dente que modificam ou predispõem a doenças gengivais/periodontais induzidas pela placa bacteriana B. Condições ou deformidades mucogengivais que rodeiam o dente C. Condições ou deformidades mucogengivais nas zonas edêntulas D. Trauma oclusal

Tabela 1: Versão abreviada da classificação de 1999 AAP das condições e doenças periodontais (Wiebe e Putnins, 2000)

A epidemiologia da doença periodontal tem sido caracterizada em diversos estudos. Em 2006, a saúde periodontal de adolescentes suecos com 19 anos de idade residentes em Gotemburgo foi descrita, revelando que 44%

dos indivíduos tinham gengivite, 70% apresentavam um índice percentual de placa bacteriana superior a 50% e, 27% dos jovens possuíam recessão gengival em pelo menos um dente (Abrahamsson *et al.*, 2006).

Na população adulta francesa foi descrita a perda de inserção clínica de ligamento periodontal em 19,7% dos indivíduos, com idades compreendidas entre os 35 e os 64 anos de idade (Bouchard *et al.*, 2006).

Os dados do 1998 UK Adult Dental Health Survey mostram que os problemas periodontais estão bem presentes na população britânica. De facto, 40 a 45% dos adultos apresentavam doença periodontal moderada e 5 a 10% severa. Além disso, 72% possuíam placa bacteriana visível e 73% apresentavam cálculo (Morris *et al.*, 2001).

A distribuição da doença periodontal na população da Jordânia refere que, no grupo etário dos 20-29 anos de idade, 58,9% dos indivíduos possuem sinais de problemas periodontais e no grupo de 50-60 anos de idade essa percentagem eleva-se para 88,9% (El-Qaderi e Quteish Ta'ani, 2004).

Nos Estados Unidos da América, está descrito que mais de 50% dos adultos apresentam gengivite, numa média de 3 a 4 dentes, e 30% apresentam bolsas periodontais de valor superior a 4 mm. A perda de inserção do ligamento periodontal superior a 3mm foi visível em 40% dos indivíduos adultos, e 67% da população observada apresentava cálculo subgengival (Oliver *et al.*, 1998).

Em Portugal a prevalência da doença periodontal em indivíduos com idades compreendidas entre os 30 e os 39 anos foi publicada em 2000, referindo que 41% dos indivíduos possuíam bolsas periodontais superiores a 5,5 mm em um ou mais locais (Marques *et al.*, 2000). Antes desta publicação, os dados do 1º Inquérito Nacional Explorador de Prevalência das Doenças e Necessidades de Tratamento na Cavidade Oral, publicados em 1990, indicam que 8% dos indivíduos observados possuíam bolsas profundas (6mm ou mais), 38% bolsas pouco profundas e 47% dos indivíduos possuíam cálculo (Almeida *et al.*, 1990a).

2.1.1 Etiologia da doença periodontal

A gengivite e a periodontite são o resultado de um processo multifactorial e, inquestionavelmente, causadas por microrganismos, ou seja, são ambas doenças infecciosas (Axelsson, 2002), podendo a sua origem ser inflamatória, traumática, genética ou metabólica (Pihlstrom *et al.*, 2005). A presença de bactérias periodontopatogénicas dá origem a um processo inflamatório nos tecidos periodontais, o qual pode conduzir à destruição do ligamento periodontal e do osso de suporte adjacente, com a consequente possível perda do dente (Shapira *et al.*, 2005; Bodet *et al.*, 2006).

A doença periodontal é caracterizada pela ocorrência de períodos de actividade alternados por períodos de inactividade, durante o período activo a destruição do periodonto é mediada por citocinas (American Academy of Periodontology, 2005; Gomez *et al.*, 2009). A sua forma mais ligeira, gengivite, é causada pela acumulação de bactérias patogénicas na placa bacteriana. A outra forma de doença periodontal, a periodontite, é uma infecção iniciada pela presença de bactérias Gram-negativas no sulco gengival (Kinane e Hart, 2003).

Existe informação científica suficiente para considerar as espécies *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides forsythus* e *Porphyromonas gingivalis* como os principais agentes patogénicos, havendo outras bactérias para as quais também parece haver evidência de associação com a doença periodontal, tais como a *Prevotella intermedia*, *Campylobacter rectus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Streptococcus intermedius* e espiroquetas (Quirynen *et al.*, 2002).

A destruição do periodonto resulta da resposta de um hospedeiro susceptível à agressão bacteriana (Borrell e Papapanou, 2005; Takashiba e Naruishi, 2006). A susceptibilidade do hospedeiro depende parcialmente de aspectos hereditários (resposta imunitária insuficiente ou inadequada) mas pode também ser influenciada pelo ambiente e factores comportamentais tais como hábitos tabágicos e *stress* (Quirynen *et al.*, 2002).

2.1.2 Prevenção da doença periodontal

Uma vez que não é possível alterar os factores hereditários do indivíduo, resta-nos intervir nos aspectos ambientais, comportamentais e na redução ou eliminação dos microrganismos patogénicos. Ao mesmo tempo, procura-se recuperar o ambiente tornando-o menos anaeróbio pela redução da profundidade das bolsas periodontais para obter uma microflora menos patológica (Quirynen *et al.*, 2002).

A prevenção da doença periodontal consiste no controlo da placa bacteriana supra e subgengival, através da utilização de meios mecânicos de remoção de depósitos moles e duros da superfície dos dentes. O aspecto mais importante na prevenção consiste na educação do indivíduo sobre as técnicas correctas de remoção de placa bacteriana, quer pelo uso de escova de dentes, quer pelo uso de fio dentário ou outro meio de higiene oral interproximal.

Também deve ser indicado ao paciente, quando a utilização dos meios mecânicos não é suficiente, o uso de um agente químico que auxilie no controlo da placa bacteriana e na redução do processo inflamatório associado à doença periodontal.

De modo a ser eficaz na actuação sobre a doença periodontal, um agente químico deve ser capaz de abranger, na sua acção, toda a bolsa periodontal e aí manter-se, numa concentração suficiente e pelo tempo necessário de forma a exercer o seu efeito. O acesso a toda a bolsa periodontal é difícil sendo que a realização de um bochecho não atinge a área subgengival, somente a irrigação subgengival o poderá fazer (Quirynen *et al.*, 2002).

2.2 A cárie dentária

A cárie dentária é uma das doenças de maior prevalência no mundo, atingindo indivíduos de ambos os sexos e de todas as faixas etárias (Islam *et*

al., 2007; Selwitz *et al.*, 2007), e que resulta do desequilíbrio entre o processo de desmineralização e de remineralização do esmalte dentário (Marsh, 1995).

A caracterização da cárie dentária na população Portuguesa tem sido realizada em diversos trabalhos, representando uma das maiores preocupações em saúde oral (Almeida *et al.*, 1990b; Almeida *et al.*, 1990a; Almeida *et al.*, 2003; de Almeida *et al.*, 2003).

Desde 1990, data do 1º Inquérito Nacional Explorador de Prevalência das Doenças e Necessidades de Tratamento na Cavidade Oral, que se estuda a prevalência da cárie dentária a nível nacional. Uma amostra, composta por 1891 indivíduos com idades de 6 e 12 anos, e de um grupo etário dos 35 aos 44 anos, foi seleccionada, apresentando um valor de CPOD aos 6 anos de 0,5; aos 12 anos de 3,8 e no grupo etário dos 35 aos 44 anos de 10,9 (Almeida *et al.*, 1990b; Almeida *et al.*, 1990a).

Os dados do III Inquérito Continental Explorador, realizado em 1999, obtidos para as crianças de 6 (n = 799) e 12 (n = 800) anos, indicam um valor de cpod para os 6 anos de 2,14 e, um CPOD aos 12 anos, de 1,59. Sendo que, nesta idade, 53% das crianças observadas possuíam cáries (Almeida *et al.*, 2003). Dados de 2005 do Estudo Nacional de Prevalência das Doenças Orais, realizado pela Direcção Geral de Saúde, indicam que aos 6 anos de idade o valor de CPOD era de 0,07, aos 12 anos de 1,48 e aos 15 anos de 3,04 (DGS, 2008).

Apesar da prevalência da cárie dentária ter diminuído drasticamente nos países desenvolvidos, com especial destaque para a Escandinávia, esta doença continua a ser um dos maiores problemas para as crianças em todo o mundo desenvolvido. Nos Estados Unidos da América mais de 95% dos adultos têm história presente ou passada de cáries de esmalte ou da raiz, observando-se a perda total de dentes em 25% da população (Garcia-Godoy e Hicks, 2008).

Assiste-se, actualmente, a uma polarização da distribuição da cárie na população (Petersson e Bratthall, 2000). Uma percentagem relativamente reduzida dos indivíduos possuem muitas cáries e a maioria da população apresenta uma baixa experiência de cárie. De facto, cerca de 20% dos jovens

contribuem para 60% das superfícies cariadas, como consequência da sua maior susceptibilidade para o desenvolvimento da doença (Bowden, 1991).

2.2.1 Etiologia da cárie dentária

O processo de desenvolvimento da cárie dentária é, hoje em dia, razoavelmente bem compreendido e tem sido extensivamente descrito na literatura.

O processo de formação de cárie dentária inicia-se após a erupção dentária. O esmalte do dente recém-erupcionado é imediatamente coberto pela película adquirida. Esta vai ajudar à sua maturação, pelo facto de ser supersaturada em iões cálcio e fosfato (Axelsson, 2000). No entanto e apesar de possuir este factor protector do esmalte, a película adquirida vai disponibilizar um substrato para as bactérias acidogénicas da placa bacteriana. Estas bactérias caracterizam-se pela capacidade de rapidamente metabolizarem os açúcares da dieta em ácidos, criando localmente zonas de baixo pH, que iniciam o processo de desmineralização do esmalte dentário (Marsh, 2003).

O processo inicia-se pela fermentação de hidratos de carbono pelas bactérias acidogénicas da placa bacteriana, originando uma variedade de ácidos orgânicos e consequente queda do pH. Em situações extremas, o pH atinge o valor crítico de 5,5 dando origem ao processo de desmineralização da hidroxiapatite (Anderson, 2002).

A baixa de pH, denominado de ataque ácido, ocorre na interface entre o esmalte dentário e a placa bacteriana e, apesar de esta estar supersaturada em iões de cálcio e fosfato, a queda do pH leva à difusão destes iões para o fluido intersticial que rodeia os cristais de hidroxiapatite. Este processo resulta na desmineralização da sub-superfície do esmalte, pelo facto do cálcio e fosfato deslocarem-se para a superfície. O transporte iónico ocorre devido à menor concentração de cálcio e fosfato solúvel na placa

bacteriana, relativamente à superfície do esmalte (Anderson, 2002; Garcia-Godoy e Hicks, 2008).

Após o ataque ácido, o valor de pH da placa bacteriana é restaurado, permitindo o início do processo de remineralização, pelo facto de aumentar a tendência de formação de fluoreto de cálcio sobre o substrato de apatite (Petersson *et al.*, 1989; Olympio *et al.*, 2007). Devido à grande quantidade dos referidos iões na placa bacteriana, estes começam a re-precipitar na superfície do esmalte remineralizando-a. Neste processo os iões de cálcio e fósforo são transportados de forma passiva para a sub-superfície do esmalte, que se encontra desmineralizada, a partir da placa bacteriana (Anderson, 2002; Garcia-Godoy e Hicks, 2008).

Este equilíbrio entre a desmineralização e a remineralização é um processo dinâmico, que oscila várias vezes durante o dia. Se existirem condições que provoquem um desequilíbrio que favoreça a desmineralização podem conduzir a situações irreversíveis da doença. (Marsh, 1995; Featherstone, 2000; Ismail *et al.*, 2001; Selwitz *et al.*, 2007).

O desenvolvimento clínico de uma lesão de cárie dentária envolve a interacção de numerosos factores na cavidade oral e nos tecidos duros do dente. De entre estes factores salientam-se a dieta e a composição da flora microbiana (Axelsson, 2000).

2.2.1.1 A dieta e a cárie dentária

A dieta constitui um dos principais determinantes da saúde. Através dos hábitos alimentares é possível conhecer diversos aspectos da vida do indivíduo ou da comunidade onde se integra (Loureiro, 2004).

Os hábitos alimentares desempenham um dos papéis mais importantes no aparecimento e desenvolvimento da cárie dentária, actuando de forma sistémica e local sobre o organismo humano. Os efeitos sistémicos consistem na capacidade da alimentação de influenciar a composição do esmalte dentário e da dentina, durante o desenvolvimento do dente e,

também, nas alterações na composição salivar resultantes de uma alimentação desequilibrada. Os efeitos locais da alimentação estão relacionados com a quantidade e frequência do consumo de açúcares (Hildebrandt e Sparks, 2000).

O surgimento de uma lesão de cárie dentária está associado a uma maior frequência de exposição do dente a hidratos de carbono fermentescíveis e, conseqüentemente, a uma placa bacteriana mais acidogénica (Marsh, 2003).

A introdução de hidratos de carbono, provenientes da dieta, na cavidade oral altera o equilíbrio químico do ambiente. Os hidratos de carbonos são metabolizados por bactérias acidogénicas e acidificam a placa bacteriana, inibindo as bactérias que são sensíveis a ambientes ácidos e promovendo o desenvolvimento de organismos com capacidade de tolerar tais ambientes, como os *Streptococcus mutans* e *Lactobacilli* (Bowden e Li, 1997; Marsh e Bradshaw, 1997; Marsh, 2003; Sbordone e Bortolaia, 2003). O pH baixo facilita o desenvolvimento destas bactérias mais acidogénicas, resultando numa maior risco cariogénico (Marsh, 2003; Paes Leme *et al.*, 2006).

A sacarose, além de ser um hidrato de carbono cariogénico, serve como substrato para a formação de polisacáridos extracelulares que promovem a acumulação bacteriana na superfície dentária, e também de polisacáridos intracelulares, que constituem uma fonte endógena de hidratos de carbono, que podem ser metabolizados pelas bactérias em períodos de carência nutricional no meio ambiente (Paes Leme *et al.*, 2006).

O aumento dos polisacáridos extracelulares pode condicionar a composição inorgânica da placa bacteriana, nomeadamente reduzindo a quantidade de cálcio, fósforo e flúor na placa bacteriana, o que reduz a sua saturação e aumenta o risco de desmineralização (Pearce, 1998).

2.2.1.2 A microflora oral e a cárie dentária

A existência de cárie dentária está associada ao aumento da proporção de bactérias acidogénicas e acidúricas (tolerantes aos ácidos resultantes do metabolismo bacteriano) na placa bacteriana, tais como o *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* e *Lactobacillus*, que têm a capacidade de promover a desmineralização do esmalte dentário (Axelsson, 2000; Marsh, 2003; Goodson *et al.*, 2004; Beighton, 2005; Islam *et al.*, 2007).

A determinação do risco de cárie dentária individual está centrada nas contagens de *Lactobacillus* e *Streptococcus mutans*, devido à sua associação numérica, positiva, com a cárie dentária e a ligação ao elevado consumo de hidratos de carbono. As contagens dos referidos microrganismos podem, potencialmente, servir não só como preditores de risco de cárie mas, também, como indicador do consumo de hidratos de carbono (van Houte, 1993; Vagstrand e Birkhed, 2007).

O género *Streptococcus* corresponde de 47% a 82% da microbiota colonizadora das superfícies dentárias, adere à hidroxiapatite coberta pela película adquirida e possui uma alta capacidade de co-agregação. A nível microbiológico, a presença de *Streptococcus mutans* tem sido frequentemente associada ao início do processo de formação de cárie dentária (Socransky e Haffajee, 2002).

Streptococcus mutans é uma espécie de bactérias Gram-positivas com morfologia de coco, pertencentes ao género *Streptococcus*, do grupo A de Lancefield. Faz parte do grupo dos *Streptococcus viridans* que agrupa todos os *Streptococcus* α -hemolíticos (provocam a lise parcial dos eritrócitos presentes no sangue) e γ -hemolíticos (não fazem a lise de eritrócitos no sangue) e está classificado como *cocci* Gram positivo, anaeróbio facultativo e catalase negativo (Loesche, 1986).

O *Streptococcus mutans* é, de todos os microrganismos da cavidade oral, o que está mais fortemente associado ao desenvolvimento da cárie dentária, causando desmineralização do esmalte devido às suas características, nomeadamente a sua capacidade de aderir à superfície

dentária, de rapidamente fermentar hidratos de carbono e metabolizá-los em ácido láctico, de produzir polisacáridos intra e extra-celulares e de manter o seu metabolismo num ambiente de baixo pH (Neves *et al.*, 2001; Tanzer *et al.*, 2001; Islam *et al.*, 2007; Kuramitsu *et al.*, 2007). A presença de *Streptococcus mutans* é um bom indicador da presença de doença mas não é necessariamente o único factor etiológico da doença (Beighton, 2005).

Quanto à sua biologia, são cocos que se agrupam em colónias lineares ou em pares. Com o método de Gram (técnica de coloração que permite obter a distinção entre bactérias com parede celular mais ou menos rica em peptidoglicano), as características da parede celular dos *Streptococcus mutans* - com parede celular espessa e membrana simples - determinam a coloração roxa (Gram positiva). São imóveis, já que não possuem órgãos de locomoção (como flagelos ou cílios) e não produzem a enzima catalase sendo, portanto, catalase negativos (Loesche, 1986; Davey e O'Toole, 2000; Goodson *et al.*, 2004; Jenkinson e Lamont, 2005).

Entre as suas principais características destaca-se o facto de resistirem à Bacitracina A, o que facilita a criação de meios de cultura selectivos. Entre as principais espécies do grupo, além do *Streptococcus mutans*, encontram-se, na cavidade oral, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus mitis* e *Streptococcus sobrinus* (Loesche, 1986; Garcia-Godoy e Hicks, 2008).

A maioria de espécies referidas faz parte da flora normal das vias aéreas superiores e em particular, da cavidade oral. Como agentes etiológicos estão associados à bacteriémia, endocardite sub-aguda, abscessos, infecções do trato genito-urinário e infecções de feridas (Loesche, 1986).

O *Streptococcus mutans* é introduzido na cavidade oral nos primeiros anos de vida, geralmente logo após a erupção dos primeiros dentes decíduos, estando presente em cerca de 20% das crianças com idades entre os 12 e 16 meses (Tanzer *et al.*, 2001; Garcia-Godoy e Hicks, 2008). Cerca de 90% das crianças cuja cavidade oral foi colonizada por *Streptococcus*

mutans aos dois anos de idade, desenvolvem cáries quando atingem os quatro anos, comparados com somente 25% das crianças que não possuem este microrganismo na sua placa bacteriana aos dois anos de idade (Garcia-Godoy e Hicks, 2008).

A transmissão destas bactérias ocorre principalmente através das mães. A transmissão vertical de mãe para filho está bem documentada pelo uso de diversas técnicas laboratoriais que incluem a análise de ADN cromossômico e plasmídio. A transmissão horizontal, de irmão, outros membros da família ou amas, também se encontra documentada (Tanzer *et al.*, 2001; Garcia-Godoy e Hicks, 2008).

Outro interveniente bacteriano no desenvolvimento de uma lesão de cárie dentária é o *Lactobacillus*. Pesquisas mostram que os *Lactobacillus spp.* tendem a melhorar e regular todo o funcionamento da flora intestinal, além de combater as substâncias tóxicas e causadoras de neoplasias. Não só fortalecem o sistema imunológico, como minimizam os efeitos colaterais provocados por antibióticos (Caufield *et al.*, 2007). Algumas espécies de *Lactobacillus* são usadas industrialmente na produção de iogurte, chucrute, pickles e outros alimentos fermentados. Alguns iogurtes contêm *Lactobacillus* como suplemento para a dieta (Caufield *et al.*, 2007).

São bactérias anaeróbias facultativas, Gram-positivas, que convertem a lactose e outros açúcares simples em ácido láctico. São geralmente benignos - e até necessários - ao corpo humano. A produção de ácido láctico faz com que o ambiente fique ácido, o que inibe o crescimento de outras bactérias nocivas (Caufield *et al.*, 2007). Os *Lactobacillus* são acidogénicos e são dependentes da existência de locais retentivos para estabelecerem grandes números de colónias (Anderson, 2002). São considerados como importantes no desenvolvimento de lesões de cárie dentária mas o seu papel como iniciadores de uma lesão não está bem estabelecido (Tanzer *et al.*, 2001). A existência de *Lactobacillus* nas lesões de cárie dentária como bactérias oportunistas provenientes de alimentos ou outras fontes externas à cavidade oral tem sido considerada (Caufield *et al.*, 2007).

2.2.2 Prevenção da cárie dentária

As estratégias de prevenção da cárie são desenvolvidas de modo a atingir os seguintes objectivos: a) inibir a produção de ácidos pela placa bacteriana, evitando o consumo de alimentos ricos em hidratos de carbono fermentescíveis entre as principais refeições ou substituindo esse consumo por alimentos sem açúcar; e b) estimular o fluxo salivar após as refeições principais (Marsh, 2003).

Para desenvolver estas estratégias é fundamental implementar programas de educação para a saúde oral, a nível individual e comunitário e, também, motivar os indivíduos para o controlo de placa bacteriana, além da utilização do flúor.

O efeito destrutivo da exposição frequente aos açúcares refinados pode ser controlado por muitos factores, tais como, a utilização de flúor e de substitutos do açúcar. Existem diversos tipos de adoçantes artificiais e alcóois de açúcares. Estudos realizados em seres humanos demonstraram que os produtos com substitutos de açúcar têm um efeito redutor na incidência da cárie dentária (Amaechi *et al.*, 1999).

A utilização de substitutos de açúcar nomeadamente de polialcóois, dos quais os mais utilizados são o xilitol, o sorbitol e o manitol tem-se tornado relevante na prevenção da cárie dentária (O'Sullivan e Thibodeau, 1996; Luís *et al.*, 2001).

2.2.2.1 A educação para a saúde oral

Os cuidados de higiene oral devem ser iniciados muito cedo na vida do indivíduo, sob supervisão de adultos. As indicações sobre as técnicas de higiene oral devem ser claras e simples e devem reforçar a necessidade de executar uma escovagem cuidadosa dos dentes, procurando que seja feita durante 2 minutos (Sgan-Cohen, 2005).

Num contexto clínico, a intervenção para a prevenção da cárie dentária é feita a nível individual. Este trabalho deve ser iniciado com a avaliação das necessidades, específicas, do indivíduo. A educação sobre técnicas de controlo de placa bacteriana e a motivação para a higiene oral, são fundamentais para atingir resultados positivos na melhoria da saúde oral. A utilização de soluções que permitam a visualização da placa bacteriana deve ser encorajada e a indicação de bochechos orais, como meio suplementar para controlo de placa bacteriana, deve ser referida aos pacientes, sempre que considerado necessário pelo profissional de saúde. A aplicação de geles e vernizes de flúor e a remoção mecânica da placa bacteriana, feita pelo profissional, são estratégias que permitem reforçar a prevenção da cárie dentária (Sgan-Cohen, 2005).

A intervenção em contexto comunitário deve ser baseada no conceito de que a cárie dentária é uma doença que pode ser prevenida, ou pelo menos controlada. É obrigação dos profissionais de saúde transmitirem aos indivíduos conhecimentos para minimizar o risco de doença (Addy, 1998; Axelsson, 2004; Sgan-Cohen, 2005). Neste tipo de intervenção é possível identificar factores de risco para a cárie dentária, presentes na comunidade, ou no indivíduo (Selwitz *et al.*, 2007), e que devem ser abordados.

A estratégia de intervenção comunitária a aplicar em Portugal está definida no Programa Nacional de Promoção da Saúde Oral elaborado pela Direcção Geral da Saúde, onde está referida a importância da identificação do risco individual de cárie: “A estratégia preventiva e terapêutica do programa complementa-se com a avaliação do risco individual de cárie dentária” (DGS, 2005).

Através do delineamento de actividades comunitárias específicas, os factores de risco para a cárie dentária podem ser alterados, resultando numa redução do risco. À medida que as metodologias de avaliação do risco de cárie, que se baseiam nos factores de risco relacionados com o hospedeiro, a microflora e a dieta, forem sendo refinadas, teremos uma verdadeira base biológica, ou bioquímica, mais credível para guiar a decisão clínica (Selwitz *et al.*, 2007).

2.2.2.2 O flúor

O flúor é um gás halogéneo que não se encontra no estado livre na natureza, somente na forma de sal de flúor. A utilização de fluoretos para prevenção da cárie dentária remonta a meados do século passado.

A introdução de fluoretos no organismo, quer por via sistémica quer por via tópica, resulta numa diminuição da incidência e gravidade da cárie dentária (Axelsson, 2000).

No organismo, os fluoretos são absorvidos principalmente no tracto gastrointestinal e distribuem-se por todos os tecidos, especialmente pelos ossos e dentes. É excretado por via renal mas, também é detectável no suor e no leite (Axelsson, 2004).

A aplicação sistémica de flúor é feita principalmente pela fluoretação da água de consumo e pela administração de suplementos de flúor (gotas ou comprimidos) (Giertsen *et al.*, 1999; Axelsson, 2004; Wilkins, 2005).

A via tópica consiste na administração de flúor através de dentífricos fluoretados, colutórios ou elixires e preparações fluoretadas de aplicação profissional.

Os dentífricos fluoretados são o meio de introdução de flúor na cavidade oral mais conhecido e utilizado. Existem diversas apresentações de flúor na composição das pastas dentífricas, tais como os fluoretos inorgânicos (fluoreto de sódio e monofluorofosfato de sódio, por exemplo), e os fluoretos orgânicos (como por exemplo o fluoreto de amina). Existem elixires e colutórios, comercialmente disponíveis, para utilização diária, em casa, com concentrações de fluoreto de sódio de 0,05% (250 ppm). A nível escolar, em programas de promoção de saúde oral, utilizam-se colutórios de maior concentração a 0,2% (900 ppm). Para aplicação profissional podem ser encontrados geles e vernizes de elevada concentração de fluoretos (Axelsson, 2004; Wilkins, 2005).

A utilização de fluoretos por via tópica tem uma elevada capacidade de prevenir a formação de lesões de cárie dentária. Marinho, em 2008, refere,

após a análise de revisões Cochrane, que a utilização de verniz de flúor previne o aparecimento de cerca de 46% de novas cáries, quando comparado com a não utilização de flúor. Fracções preventivas estimadas indicam valores de 28% para a utilização de geles de flúor, 26% para a utilização de bochechos fluoretados e de 24% para a utilização de dentífricos fluoretados (Marinho, 2008).

O mecanismo de acção do flúor na prevenção da cárie dentária ainda é objecto de estudo. Existem correntes que abordam a sua eficácia pela capacidade de reduzir a solubilidade do esmalte dentário, através da formação da fluoroapatite, uma vez que os grupos hidroxilo da hidroxiapatite, maior constituinte do esmalte, podem ser substituídos por outros iões e, neste caso, pelo ião fluoreto, dando origem à fluoroapatite. Da formação da fluoroapatite resulta uma maior estabilidade estrutural da apatite, o que se traduz numa maior resistência ao ataque ácido resultante do metabolismo bacteriano (Axelsson, 2000; Featherstone, 2000; Axelsson, 2004; Wilkins, 2005; Islam *et al.*, 2007)

Nos dentes já erupcionados a utilização de flúor favorece a remineralização do esmalte após o ataque ácido, resultando num efeito cariostático significativo. A presença de iões fluoreto na superfície do esmalte origina a deposição de sais nas lesões iniciais de cárie dentária formadas durante o processo de desmineralização, mesmo com valores baixos de pH (Lynch *et al.*, 2006). O valor baixo de pH influencia de forma significativa a difusão do flúor no esmalte (Petersson *et al.*, 1989; Olympio *et al.*, 2007), facilitando a sua incorporação na estrutura dentária. A continuação da deposição destes sais vai permitir um aumento progressivo da resistência da superfície do esmalte ao ataque ácido (Axelsson, 2000; Featherstone, 2000; Islam *et al.*, 2007).

O flúor possui também propriedades anti-bacterianas pelo facto de ser um inibidor enzimático e alterar o processo metabólico bacteriano, resultando na redução da produção de substâncias ácidas e na interferência na produção polissacarídeos, o que altera a capacidade de adesão bacteriana

às superfícies orais (Addy, 1998; Eley, 1999; Axelsson, 2000; Van Loveren, 2001; Bradshaw *et al.*, 2002; Islam *et al.*, 2007).

3. Controlo da placa bacteriana

Para prevenir as doenças orais é necessário intervir na placa bacteriana. Os procedimentos de intervenção podem ser agrupados em dois tipos: os que fisicamente, por acção mecânica, removem os microrganismos e os que, por acção química, tem por objectivo eliminar os microrganismos, reduzir o seu metabolismo ou alterar o ambiente no qual se desenvolvem (Socransky e Haffajee, 2002).

A natureza patogénica da placa bacteriana pode ser diminuída pela manutenção de uma higiene oral, mecânica e química, eficaz, que inclui a realização diária da escovagem, do fio dentário ou outras técnicas de higiene oral interproximal e de um bochecho antiséptico (Thomas e Nakaishi, 2006).

3.1 Controlo mecânico da placa bacteriana

A forma mais fácil e eficaz de prevenção dos problemas orais consiste na remoção física da placa bacteriana. A escovagem diária dos dentes e a utilização de fio dentário, ou outro método de remoção de placa bacteriana interproximal, é eficaz na prevenção da cárie dentária e das doenças periodontais (Axelsson, 2004).

3.1.1 A escovagem

A escova de dentes é o instrumento de higiene oral individual mais utilizado. Independentemente da sua forma e design, a sua função é simples: fragmentar a placa bacteriana pela acção mecânica dos filamentos e retirá-la da superfície dentária. A eficácia de remoção de placa bacteriana está fortemente relacionada com o tempo de escovagem e é aumentada pelo uso

de um dentífrico (Petersilka *et al.*, 2002). No entanto, as escovas só penetram cerca de 0,9 mm na zona subgengival e não removem os agentes patogénicos que estão no fundo do sulco gengival (Axelsson, 2004).

Diversos estudos abordam a eficácia da remoção da placa bacteriana por escovas manuais. Na literatura podem ser encontrados diferentes valores de redução da quantidade de placa bacteriana, desde uma redução de 56% no índice de placa bacteriana avaliado em toda a cavidade oral, até uma redução de 49,8% para dentes posteriores e 58,6% para dentes anteriores no mesmo índice (Paraskevas *et al.*, 2007; Sripriya e Shaik Hyder Ali, 2007), ou mesmo intervalos de 40% a 55% de remoção de placa bacteriana (van der Weijden e Hioe, 2005). De la Rosa *et al.* em 1979, citado por van der Weijden em 2005, refere que, em média, 60% da placa bacteriana ainda estava presente na superfície dentária após a escovagem (van der Weijden e Hioe, 2005).

A utilização de escova eléctrica é descrita como melhorando a destreza do paciente e facilitando a remoção de placa bacteriana. A sua eficácia é referida como variando entre 61% e 69% de remoção de placa bacteriana total e de 58% a 65% em interproximal (van der Weijden e Hioe, 2005).

Um aspecto importante para eficácia da escovagem é o tempo de realização da mesma. Muitos pacientes escovam durante um período de tempo muito reduzido, estando descrito trinta e sete segundos como o tempo médio para a escovagem diária (Beals *et al.*, 2000).

3.1.2 A higiene interproximal

A remoção efectiva da placa bacteriana existente nos espaços interproximais só é possível utilizando instrumentos de higiene oral adequados, quer seja o fio dentário, o palito ou o escovilhão. A utilização de meios de remoção de placa bacteriana interproximal pode destruir o biofilme interproximal e, desde que realizados diariamente, prevenir a doença periodontal (Petersilka *et al.*, 2002).

O fio dentário está mais indicado para espaços interproximais estreitos enquanto a fita dentária, o palito e o escovilhão devem ser utilizados em espaço mais largos. Os escovilhões podem atingir cerca de 2,5 mm de profundidade do sulco gengival enquanto o fio dentário atinge até 3,5 mm dessa mesma profundidade (Petersilka *et al.*, 2002).

Vários estudos demonstram a eficácia do uso regular de fio dentário na remoção de placa bacteriana interproximal e a vantagem da sua utilização como complemento da escovagem (Petersilka *et al.*, 2002; Terezhalmay *et al.*, 2008). No entanto, também está descrito na literatura que a utilização do fio dentário em casa, sem supervisão, não é eficaz na prevenção das cáries interproximais (Slots e Jorgensen, 2002; Hujoel *et al.*, 2006). A eficácia das técnicas de higiene interproximal é muito limitada pela habilidade na execução da técnica, tendo sido descrita a remoção de somente 15% e 19,4% da placa bacteriana interproximal pela utilização do fio dentário (Petersilka *et al.*, 2002; Blanck *et al.*, 2007).

Os dados disponíveis na literatura mostram que, para a maioria dos pacientes, as rotinas diárias de higiene oral não são suficientes e não permitem controlar a placa bacteriana de forma efectiva. O maior desafio para o profissional é o de encontrar as técnicas que mais se adequam a cada paciente e, além disso, motivá-los para a sua execução (Mandel, 1994).

A motivação dos pacientes para a realização da escovagem e higiene interproximal é difícil, pois a sua execução é muito exigente a nível de tempo e de destreza manual. A eficácia de remoção de placa bacteriana depende em larga medida do instrumento utilizado e da anatomia dentária.

A motivação é essencial para a execução da técnica de escovagem. O facto de o paciente receber instruções sobre como efectuar a remoção de placa bacteriana com a escova de dentes, tem demonstrado poder aumentar a eficácia da escovagem em 30%, o que reforça a importância dos ensinamentos de escovagem durante uma consulta de higiene oral (Petersilka *et al.*, 2002).

O facto de os pacientes ao longo do tempo deixarem de executar a remoção mecânica da placa bacteriana devido à perda de motivação, falta de

tempo ou de destreza manual, reduz a efectividade da sua remoção (Petersilka *et al.*, 2002). Kalsbeek (2000) refere que somente 10% da população utiliza fio dentário diariamente; MacGregor em 1998 e Stewart em 1997, (citados por Ciancio, 2003) também indicam que somente 10% da população usa o fio dentário de forma regular e efectiva.

3.1.3 O controlo profissional

A remoção mecânica profissional de placa bacteriana, com melhores resultados na destruição da placa bacteriana, é efectuada nos gabinetes dentários e é frequentemente realizada com o uso de cúpula de borracha ou escova com pasta de polimento, colocada num contra-ângulo, ou com jacto de bicarbonato de sódio. A eficácia depende da abrasividade da pasta de polimento, da velocidade de rotação, da pressão aplicada na peça de mão e da duração da execução (Petersilka *et al.*, 2002).

A eficácia do uso do jacto de bicarbonato de sódio para a remoção de placa bacteriana é difícil de avaliar, pois depende de diversos factores, tais como o tamanho e a forma das partículas do pó de bicarbonato de sódio, o volume de água e a distância do instrumento à superfície dos dentes (Petersilka *et al.*, 2002). A remoção de placa bacteriana, assim como de manchas extrínsecas, é obtida pela acção mecânica das partículas inseridas no jacto de água expelido pelo instrumento. É considerado como o método mais eficiente de remoção de placa bacteriana supragengival, quando comparado com o uso de cúpula e escova de polimento podendo, no entanto, levar à perda de estrutura dentária, especialmente quando utilizado na raiz do dente ou em dentina exposta (Petersilka *et al.*, 2002).

3.2 Controlo químico da placa bacteriana

Medidas comuns de controlo da placa bacteriana, para além dos meios mecânicos de higiene oral, incluem a utilização de substâncias que impedem

a formação de microcolónias ou que alteram as condições necessárias ao seu desenvolvimento na superfície do dente.

Tem-se assistido, nos últimos anos, ao aparecimento no mercado de diversos produtos destinados ao controlo químico da placa bacteriana. Novas fórmulas, agentes químicos e sabores são apresentados regularmente aos consumidores, permitindo escolher entre produtos que proporcionam a redução da placa bacteriana, beneficiam a saúde gengival e dentária ou melhoram o hálito. Uma vez que estes produtos estão acessíveis ao consumidor e apresentam preços razoáveis, devem ser seriamente considerados como instrumentos coadjuvantes da higiene oral individual (Wu e Savitt, 2002).

Os produtos para utilização oral na forma de bochecho são denominados de elixires se contiverem os princípios activos diluídos numa solução hidro-alcoólica ou de colutórios caso não possuam álcool na sua composição.

Estes produtos são de fácil utilização pelo paciente e a sua eficácia depende não só da capacidade de inibição da actividade microbiana, como também do tempo de contacto com a superfície onde actuam (Axelsson, 2004).

Devido às dificuldades de colaboração por parte dos pacientes, na manutenção de uma boa higiene é por vezes necessária a introdução, nos hábitos diários de higiene oral, de elixires ou colutórios que auxiliam no controlo da placa bacteriana (Addy, 1998; Santos, 2003).

O uso regular de um elixir/colutório, juntamente com a escovagem, parece ser mais eficaz, de forma estatisticamente significativa, na redução de placa bacteriana interproximal do que o uso de fio dentário. Diferenças estatisticamente significativas não foram encontradas na redução no índice de hemorragia interproximal (Zimmer *et al.*, 2006).

As bactérias da placa bacteriana são menos susceptíveis aos agentes antimicrobianos do que as bactérias suspensas na saliva (Marsh, 1995; Wilson, 1996; Sbordone e Bortolaia, 2003). Adicionalmente, a eficácia dos

agentes químicos existentes nos elixires/colutórios diminui com o aumento da idade da placa bacteriana e com a presença de partículas de sangue (van der Mei *et al.*, 2006).

3.2.1 Os dentífricos

Os dentífricos são os produtos de higiene oral mais conhecidos. São pastas ou geles utilizados durante a escovagem, com o objectivo de auxiliar a remoção da placa bacteriana.

Os componentes básicos de um dentífrico são produtos com características detergentes, abrasivas, humectantes, espessantes e conservantes para além da água e de ingredientes que lhes adicionam sabor e cor (Wilkins, 2005).

Na composição de um dentífrico, os detergentes têm por objectivo diminuir a tensão superficial, penetrar, amolecer e emulsionar os depósitos da superfície do dente e promover a formação de espuma. Os mais comuns são o lauril sulfato de sódio e o lauril sarcosinato de sódio (Wilkins, 2005).

Os agentes abrasivos são utilizados na produção de uma superfície polida no dente. Um agente abrasivo ideal não destrói o esmalte e prepara a superfície dentária de modo a dificultar a recolonização bacteriana. Os mais comuns são o carbonato de cálcio, o pirofosfato de cálcio e a sílica (Wilkins, 2005).

Os espessantes são utilizados para prevenirem a separação entre os componentes sólidos e líquidos dos dentífricos. Os mais comuns são os colóides minerais, os colóides de algas, as colas naturais e a celulose sintética (Wilkins, 2005).

Os humectantes retêm a humidade no dentífrico evitando que seque rapidamente quando exposto ao ar. Os mais comuns são, o glicerol, o sorbitol e o propilenoglicol (Wilkins, 2005).

Os conservantes são utilizados para inibir o crescimento bacteriano no dentífrico e prolongar a sua validade. Os mais comuns são o álcool e o formaldeído.

Os adoçantes e corantes tornam o produto mais agradável, quer em sabor quer em aspecto, para melhorar a aceitação do paciente. Os mais comuns são os adoçantes artificiais não cariogénicos, os óleos essenciais (mentol ou eucaliptol, entre outros) e os corantes vegetais (Wilkins, 2005).

Os dentífricos e geles com fins terapêuticos possuem, ainda, agentes químicos activos, adicionados para responder ao problema para o qual o produto está direccionado (Wilkins, 2005).

Os dentífricos têm objectivos terapêuticos, quando utilizados na prevenção da cárie dentária, na redução da sensibilidade e na redução da gengivite, e cosméticos quando utilizados como branqueadores. O primeiro dentífrico com propriedades de prevenção de cárie dentária, obtida pela inclusão de fluoretos na sua composição, surgiu no mercado em 1955 (Wilkins, 2005).

3.2.2 Os elixires e colutórios orais

A disponibilidade de elixires e colutórios orais no mercado nacional tem aumentado ao longo dos últimos anos. Esta maior acessibilidade permite considerá-los como uma ferramenta útil na saúde oral dos pacientes uma vez que, para muitos, a remoção mecânica de placa bacteriana é um processo complicado e de difícil execução.

A selecção do produto a indicar a um paciente deve ser baseada nas suas necessidades e motivação para utilização. O seu uso deve ser direccionado para o controlo da placa bacteriana quando existe dificuldade na manutenção de uma higiene oral, correcta, por meios mecânicos (Sreenivasan e Gaffar, 2002).

A manutenção do contacto com a superfície dentária é um dos aspectos essenciais para o sucesso de um produto de utilização oral. A saliva e a deglutição dificultam a permanência de qualquer produto na cavidade oral, fazendo a sua diluição e mesmo eliminação, o que pode dificultar a manutenção de um princípio activo, num mesmo local, durante o tempo suficiente para se observar o seu efeito.

Um aspecto a considerar na selecção de um produto é a sua substantividade, que consiste numa maior, ou mais prolongada, ligação entre o princípio activo e as estruturas orais (Addy, 1998). Exemplos de sucesso de substantividade são a clorhexidina e o flúor. Existem diversos factores que influenciam a substantividade de um agente químico, nomeadamente a concentração e as características químicas do produto, o seu pH e temperatura, assim como o período de contacto da solução com as estruturas orais (Addy, 1998; Eley, 1999).

A substituição dos meios mecânicos por elixires ou colutórios deve ser desencorajada, uma vez que não possuem capacidade de penetrarem de forma significativa no espaço subgengival, chegando somente a cerca de 2mm dentro do sulco gengival, não sendo capazes de atingir o fundo do mesmo ou de bolsas periodontais (Ciancio, 1995; Wilkins, 2005; Hughes, 2006).

Quando utilizados conjuntamente com uma rotina de higiene oral diária de escovagem e higiene interproximal, possuem vantagens terapêuticas devido à sua composição em agentes activos que auxiliam no controlo da placa bacteriana (Barnett, 2006; Hughes, 2006; Zimmer *et al.*, 2006; Moran, 2008).

Os agentes activos e as diferentes formas de abordagem na cavidade oral permitem a seguinte classificação dos produtos com possível utilização oral (Mandel, 1994):

- (i) Antisépticos com largo espectro antibacteriano;
- (ii) Antibióticos capazes de inibir ou matar um grupo específico de bactérias;

- (iii) Enzimáticos, capazes de dispersar a matriz interbacteriana ou alterar a actividades do biofilme;
- (iv) Não-enzimáticos, dispersantes, desnaturantes ou modificantes que alteram a estrutura ou o metabolismo do biofilme, e
- (v) Agentes que alteram a adesão das bactérias entre si ou à película adquirida.

Os antisépticos têm merecido maior atenção, uma vez que são os que existem em maior número e que têm capacidade de actuarem eficazmente na prevenção da cárie dentária e da doença periodontal (ten Cate, 2009). A actividade dos antisépticos obtida em testes *in vitro*, não é um factor fiável para predizer a actividade inibitória de placa bacteriana *in vivo*, uma vez que, a protecção decorrente da organização das bactérias na placa bacteriana não se observa nos estudos *in vitro* realizados em bactérias isoladas (Addy, 1998; Fine *et al.*, 2001). Possíveis explicações para esta protecção decorrem do facto de muitos agentes terapêuticos ligarem-se à matriz exopolimérica da placa bacteriana por interacções iónicas ou electrostáticas ou, então, pela alta concentração de enzimas bacterianos no biofilme que interagem e inactivam os agentes antimicrobianos antes de atingirem as bactérias (Sbordone e Bortolaia, 2003; ten Cate, 2006).

Os antibióticos actuam de forma mais específica nos microrganismos resultando em efeitos bacteriostáticos ou bactericidas (Socransky e Haffajee, 2002). A resposta bacteriana a antibióticos é afectada pelo estado nutricional dos microrganismos, estágio de crescimento, temperatura, pH e pré-exposição à substância antimicrobiana. O facto de poder surgir resistência bacteriana ao antibiótico, o que impede a sua utilização comercial como bochecho oral, é um factor de preocupação (Socransky e Haffajee, 2002).

As enzimas actuam como agentes de remoção da placa bacteriana, devido ao seu potencial para prejudicar a formação da película adquirida, impedindo o seu desenvolvimento e a adesão bacteriana (Lindhe *et al.*, 2003). Podem ser organizadas em dois grupos, o primeiro grupo é composto por enzimas como a dextranase, mutanase e várias proteases, que possuem

a capacidade de destruir a matriz da placa bacteriana que se está a formar, mas que apresentam uma baixa substantividade. O segundo grupo inclui a glucose oxidase e a amiloglucosidase que potenciam os mecanismos de defesa do hospedeiro e tem por objectivo catalisar a conversão do tiocinato endógeno e exógeno em hipotiocinato através do sistema de lactoperoxidase salivar. Esta acção está, teoricamente, bem documentada mas não existem estudos clínicos de longa duração que a suportem (Addy, 1998).

Os restantes produtos, não enzimáticos e agentes que alteram a adesão das bactérias entre si, têm sido pouco estudados para utilização na cavidade oral (Mandel, 1994). Uma vez que os antisépticos na forma de elixires ou colutórios são os mais utilizados, procederemos ao seu estudo mais detalhado.

3.2.2.1 Antisépticos

Os antisépticos são definidos como substâncias capazes de impedir, pela inactivação ou destruição, a proliferação de microrganismos (Axelsson, 2004). Possuem um maior efeito preventivo do que terapêutico, apresentando poucos riscos e efeitos secundários locais de reduzida importância (Addy, 1998).

De entre os antisépticos destacam-se (Axelsson, 2004; Wilkins, 2005):

- (i) Os compostos fenólicos;
- (ii) Os sais metálicos;
- (iii) Os extractos herbáceos;
- (iv) Os agentes oxidantes;
- (v) Os tensioactivos aniónicos e
- (vi) Os tensioactivos catiónicos, as bis-biguanidas e derivados pirimidínicos.

Compostos fenólicos

Os fenóis e os seus derivados, tais como o timol, o clorotimol e o hexilresorcinol fazem parte da composição de alguns antisépticos, com o objectivo de inibir a formação da placa bacteriana, possuindo, ainda, algumas propriedades anti-inflamatórias.

De entre os compostos fenólicos um dos mais conhecidos é o triclosan, que é simultaneamente um bisfenol e um germicida não iónico de baixa toxicidade. Possui, em concentrações relativamente elevadas (0,2%), um largo espectro de actuação sobre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. O seu efeito anti-placa bacteriana é moderado devido à sua substantividade de menos de 5 horas (Mandel, 1994; Addy, 1998; Lindhe *et al.*, 2003).

A actividade do triclosan é aumentada se, na composição do produto, for adicionado citrato de zinco ou copolímero metoxietileno e ácido maleico (Eley, 1999). Este copolímero parece ter a capacidade de aumentar a retenção do triclosan na cavidade oral, enquanto o citrato de zinco parece aumentar a sua acção antimicrobiana (Eley, 1999). Existe alguma evidência para as capacidades anti-inflamatórias do triclosan pois apresenta maiores efeitos na redução da gengivite do que na redução da placa bacteriana. Somente os dentífricos com triclosan e copolímero apresentaram efeitos de redução de placa bacteriana em estudos de longa duração (Addy, 1998). Também Jenkins *et al.* em 1994 (citado por Baehni e Takeuchi, 2003) confirmou o efeito inibitório do triclosan na placa bacteriana e na redução do número de bactérias anaeróbias da mesma. Não estão reportados efeitos secundários no uso deste agente (Addy, 1998).

Os óleos essenciais, nomeadamente o mentol, timol e eucaliptol são eficazes na redução da gengivite e na redução da placa bacteriana, tendo sido declarados pela *Food and Drug Administration* como seguros para utilização humana (Wu e Savitt, 2002). Estes compostos serão apresentados detalhadamente mais adiante.

Sais metálicos

Um grande número de iões metálicos tem sido objecto de estudo para aplicação na cavidade oral, nomeadamente o zinco, o cobre e o estanho, pois possuem propriedades de inibição bacteriana (Wilkins, 2005). O cobre e o estanho provocam manchas extrínsecas nas superfícies orais, sendo o ião de estanho utilizado na forma de sal estanhoso em geles, dentífricos e colutórios para controlo da placa bacteriana e da gengivite. Alguns produtos anti-cárie possuem o ião de estanho na sua composição pela sua facilidade em transportar o ião fluoreto e não pela sua actividade antibacteriana (Axelsson, 2004). O zinco é retido pela placa bacteriana e possui a capacidade de inibir o crescimento bacteriano. O seu efeito depende da concentração, tipo de sal utilizado e da frequência de utilização. A sua utilização em produtos de higiene oral é dificultada pela sua baixa estabilidade, estando frequentemente associados a outros agentes activos para obter efeitos antibacterianos adicionais (Addy, 1998; Eley, 1999).

Extractos herbáceos

A sanguinária é um alcalóide extraído da planta *Sanguinária canadensis*. Possui propriedades antimicrobianas mas a sua capacidade de inibição de crescimento da placa bacteriana é baixa e vários estudos clínicos realizados são inconclusivos relativamente à sua eficácia. Não é por isto, considerada como um produto viável na prevenção das doenças orais (Eley, 1999; Wilkins, 2005; Wilkins, 2009).

Agentes oxidantes

O iodo elementar é um conhecido germicida, actuando sobre diversos microrganismos. Os compostos iodóforos, tais como a iodopovidona, são agentes activos com propriedades anti-sépticas. No entanto, a sua capacidade de inibição de crescimento da placa bacteriana não está bem definida. Possui ainda uma desvantagem proveniente do facto de possuir um

sabor muito desagradável, o que condiciona a sua utilização (Eley, 1999; Wilkins, 2005; Wilkins, 2009).

Tensioactivos aniónicos

De entre os tensioactivos aniónicos destacam-se o octapinol e o delmopinol que exibem a capacidade de inibir a formação e dissolver a placa bacteriana já formada. Possuem como efeitos adversos o facto de provocarem um efeito anestésico, local e fraco, nos tecidos moles e de terem um gosto amargo que pode comprometer a sua utilização. Podem provocar o aparecimento de manchas extrínsecas de cor castanha que são, no entanto, facilmente removidas pela escovagem (Axelsson, 2004). O delmopinol será abordado com maior profundidade adiante.

Tensioactivos catiónicos

De entre os antisépticos tensioactivos catiónicos destaca-se, pela sua larga utilização, a clorhexidina, indicada como agente principal para a inibição da formação da placa bacteriana e prevenção da gengivite (Axelsson, 2004).

A clorhexidina é uma bis-biguanida catiónica, o que favorece a sua atracção pelas superfícies dentárias, apresentando-se mais frequentemente disponível na forma de digluconato de clorhexidina com diferentes concentrações (0,05%; 0,12% e 0,2%) dependendo do uso proposto (Hughes, 2006). Apresenta características bacteriostáticas em baixas concentrações e bactericida em concentrações mais elevadas. As suas moléculas são adsorvidas para a superfície do esmalte dentário ou para a película adquirida inibindo a adesão bacteriana (Eley, 1999; Baehni e Takeuchi, 2003). Tem uma elevada substantividade, mantendo uma acção bacteriostática por períodos superiores a 12 horas (Lindhe *et al.*, 2003).

Como agente antiséptico, a clorhexidina é eficaz *in vitro* contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, incluindo anaeróbias e aeróbias,

assim como contra fungos e bolores (Gilbert e Moore, 2005; Ribeiro *et al.*, 2007). A sua acção antiséptica ocorre por provocar o aumento da permeabilidade da membrana celular, seguida da coagulação das macromoléculas do citoplasma (Eley, 1999).

Podem ser encontradas formulações que conjugam a clorohexidina com o flúor para potenciar a prevenção da cárie dentária, no entanto a adição da clorohexidina a pastas dentífricas e geles é dificultada pela interacção com alguns dos componentes dos dentífricos (a clorohexidina é inactivada pelo lauril sulfato de sódio presente nos dentífricos). Apesar de existirem no mercado dentífricos com clorohexidina na sua composição, tendo para isso sido criadas formulações adequadas, a apresentação mais usual é na forma de elixir ou colutório oral (Eley, 1999).

As alterações de paladar, a formação de manchas extrínsecas de cor castanha nos dentes e mucosas, o aumento da formação de tártaro supragengival e a impossibilidade de utilizar o elixir antes de 30 minutos após a escovagem, são as principais barreiras ao uso continuado da clorohexidina (Eley, 1999; Santos, 2003).

Enquanto um grupo catiónico realiza a ligação com a superfície dentária ou da mucosa, o outro, livre, liga-se à célula bacteriana conduzindo à destruição da membrana celular. Este segundo grupo pode no entanto ligar-se aos componentes dietéticos, tais como os polifenóis que existem em alguns alimentos como o café e o chá e a taninos do vinho, levando à formação das manchas extrínsecas (Eley, 1999). Devido à sua capacidade de promover a formação de manchas extrínsecas, deve solicitar-se aos pacientes que se abstenham de beber café, chá e vinho tinto, durante o período de realização do bochecho. Também deve ser tida em atenção a utilização de clorohexidina por pacientes com restaurações de dentes anteriores com compósito, pois as margens das restaurações ficam frequentemente manchadas, sendo difícil ou mesmo impossível a remoção da mancha (Eley, 1999).

A existência de efeitos secundários da utilização de clorohexidina foi notada por McCoy *et al.*, em 2008. Este autor referiu que 41% dos

participantes no ensaio clínico reportaram efeitos secundários adversos, sendo de realçar as alterações de sabor, a coloração dos dentes e dor nas mucosas orais e orofaringe. Neste estudo foi encontrada uma relação estatisticamente significativa entre pacientes com índice de massa corporal superior a 30 e o surgimento de efeitos adversos da clorohexidina (McCoy *et al.*, 2008). Devido a todos estes factores a utilização de clorohexidina não deve superar as duas semanas (Eley, 1999), o que inviabiliza a sua utilização como complemento de remoção mecânica da placa bacteriana.

Numerosos ensaios clínicos avaliaram a utilização de elixires contendo clorohexidina na sua composição em concentrações variadas, referindo excelentes resultados na redução de gengivite, hemorragia gengival e acumulação de placa bacteriana, não tendo sido referido o surgimento de bactérias oportunistas nem alterações patológicas da flora oral (Sreenivasan e Gaffar, 2002; Charles *et al.*, 2004; Stookey *et al.*, 2005). Outras utilizações deste agente químico incluem o seu uso como irrigante e para controlo de carga bacteriana em aerossóis, produzidos em tratamentos realizados com instrumentos rotativos (Sreenivasan e Gaffar, 2002).

A alexidina é uma bis-biguanida alquílica, com características e eficácia semelhantes à clorohexidina, estando presente em formulações com 0,035% e 0,05% (Axelsson, 2004).

Ainda dentro do grupo dos tensioactivos catiónicos, existem os derivados pirimidínicos. De entre estes, a hexetidina possui propriedades semelhantes à clorohexidina, exhibe alguma capacidade de inibição de placa bacteriana mas possui uma substantividade de 1 a 3 horas, o que pode justificar o seu baixo efeito sobre a placa bacteriana. Se for utilizada em concentrações superiores a 0,1% pode provocar ulcerações orais, apesar disso é possível encontrar no mercado colutórios com concentrações de 0,1 e 0,2% (Eley, 1999).

Os compostos de amónia quaternária são também antisépticos tensioactivos catiónicos, sendo o mais estudado o cetilpiridínio, na forma de cloreto de cetilpiridínio (CPC). É usado geralmente numa concentração de

0,05%, sendo no entanto possível encontrar no mercado produtos com concentrações até 0,1%, em soluções com ou sem álcool (Axelsson, 2004). A sua segurança para utilização oral está bem documentada (Stookey *et al.*, 2005). Tem a capacidade de penetrar a membrana celular, causando a perda de material bacteriano e perturbar o metabolismo bacteriano inibindo o crescimento celular (Hughes, 2006).

Nos valores normais do pH da cavidade oral, os compostos de amónia quaternária, têm a capacidade de adsorver nas superfícies orais mantendo a sua substantividade por períodos de 3 horas (Addy, 1998). Para aumentar a sua eficácia, seria necessário recomendar a sua utilização quatro vezes ao dia, o que dificultaria a colaboração dos pacientes e aumentaria, também, a formação de manchas extrínsecas nas superfícies dentárias, assim como a formação de tártaro supragengival (Addy, 1998; Eley, 1999; Lindhe *et al.*, 2003).

3.2.3 A utilização de óleos essenciais e delmopinol

A utilização de um elixir com óleos essenciais, ou de um colutório com delmopinol, revela-se vantajosa na promoção da saúde e na prevenção das doenças orais (Hughes, 2006; Moran, 2008). Em relação a outros produtos existentes no mercado, nomeadamente a clorhexidina, o triclosan e o cloreto de cetilpiridínio, os óleos essenciais e o delmopinol possuem a vantagem de não apresentarem efeitos secundários e, por essa razão, poderem ser usados por um longo período de tempo, sempre inibindo a formação da placa bacteriana, o que produz um interesse acrescentado no seu estudo.

A utilização dos óleos essenciais e do delmopinol tem sido bem estudada, não tendo sido referido o aparecimento de agentes patogénicos oportunistas, nem de resistência bacteriana a estes compostos (Sreenivasan e Gaffar, 2002; Wu e Savitt, 2002; Santos, 2003).

Uma das preocupações no uso do elixir, no qual os óleos essenciais estão solubilizados numa solução hidroalcoólica, está relacionada com os possíveis efeitos nefastos do álcool. Os pacientes que sofrem de alcoolismo e

que estejam num processo de desabituação ou cessação de consumo de bebidas alcoólicas não devem utilizar este elixir, pois a sua concentração em álcool etílico é de 21,5%. Outro aspecto importante é a provável associação do álcool ao cancro oral, neste campo é de referir que não está demonstrada qualquer relação entre o conteúdo em álcool de elixires orais e o cancro oral (Shapiro *et al.*, 1996; Eley, 1999; Wu e Savitt, 2002; Cole *et al.*, 2003; FDA, 2003; Peláez *et al.*, 2004; Silverman e Wilder, 2006).

Há no entanto uma associação entre o uso de elixires e a existência de dor na cavidade oral, após a utilização do elixir, notando-se uma relação directa entre a concentração de etanol e o grau de dor, que, no entanto, diminuiu com a cessação do uso do elixir (Bolanowski *et al.*, 1995a). A dor é relatada por alguns pacientes, que referem ter dificuldade na utilização regular do produto devido ao seu conteúdo em álcool, (Bolanowski *et al.*, 1995b; Wu e Savitt, 2002) podendo também surgir uma ligeira pigmentação extrínseca da superfície dentária, facilmente removida pela escovagem (Charles *et al.*, 2004).

3.2.3.1 Os óleos essenciais

Os óleos essenciais são substâncias voláteis extraídas de plantas aromáticas que possuem a capacidade de retardar ou inibir o desenvolvimento bacteriano. Os componentes dos óleos essenciais com maior efeito antibacteriano são os compostos fenólicos e os álcoois alifáticos (Tiwari *et al.*, 2009)

A forma de actuação dos óleos essenciais encontra-se bem estudada. Ouhayoun cita trabalhos, realizados por Fine em 1998 e Kubert *et al.* em 1993, onde se indica que os óleos essenciais possuem a capacidade de destruir a membrana celular dos microrganismos e inibem a sua actividade enzimática. Além disso, impedem os colonizadores secundários de se agregarem às espécies pioneiras do biofilme oral, reduzem a multiplicação bacteriana e extraem endotoxinas das bactérias Gram-negativas, reduzindo a

quantidade de placa bacteriana, atrasando a sua maturação e diminuindo a sua patogenicidade (Ouhayoun, 2003).

Os óleos essenciais possuem também um efeito bactericida, tendo sido encontrados valores de 78,7% de bactérias não vitais após o uso do elixir durante 60 segundos (Pan *et al.*, 2000). São igualmente eficazes na redução da capacidade acidogénica da placa bacteriana, independentemente da presença ou não de flúor na composição do elixir (Zhang *et al.*, 2004) sendo, no entanto, comprovadamente eficazes na remineralização de lesões cariogénicas quando o ião flúor se encontra presente (Zero *et al.*, 2004).

Foi demonstrado que os óleos essenciais são capazes de penetrar a placa bacteriana (Santos, 2003). Tal acção representa um aspecto fundamental da capacidade deste agente em reduzir a quantidade de placa bacteriana e a gengivite, também nas zonas interproximais, de maior dificuldade para higiene oral (Santos, 2003).

O efeito antiplaca e antigengivite dos elixires que contêm óleos essenciais encontra-se bem documentado na literatura. Ensaio clínico de longa duração, incluindo os que envolveram o uso de fio dentário, mostraram reduções na gengivite de 14% a 30% e reduções de placa bacteriana de 19% a 56% quando comparado com placebo (DePaola *et al.*, 1989; Overholser *et al.*, 1990; Mandel, 1994; Charles *et al.*, 2001; Sharma *et al.*, 2002; Bauroth *et al.*, 2003; Charles *et al.*, 2004; Sharma *et al.*, 2004; Stoeken *et al.*, 2007b; Stoeken *et al.*, 2007a).

Os óleos essenciais possuem a capacidade de reduzir a quantidade de bactérias existentes no espaço interproximal em 43,8%, cinco minutos após a utilização do elixir (Charles *et al.*, 2000). Quando utilizado em conjunto com o fio dentário observaram-se reduções de placa bacteriana de 52% e do índice gengival de 21% (Sharma *et al.*, 2002)

Os óleos essenciais, usados em conjunto com a clorohexidina, demonstraram ter efeito significativo na redução de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus*, os resultados, obtidos nos testes *in vitro*, mostraram que a combinação dos dois princípios activos possuía melhores resultados contra

os microrganismos na forma de biofilme do que na forma planctónica (Filoche *et al.*, 2005).

A utilização diária de elixires com óleos essenciais apresenta uma actividade antimicrobiana significativa contra os agentes periodontais patogénicos da flora subgingival. Tal facto pode ser explicado pela destruição da continuidade da placa bacteriana supra gengival pelo elixir (Fine *et al.*, 2007a; Fine *et al.*, 2007b). O uso do elixir por períodos de tempo superiores a seis meses é seguro para a saúde oral, não apresentando efeitos adversos (Minah *et al.*, 1989; Wu e Savitt, 2002).

Um elixir com óleos essenciais, Listerine, (Fig. 1) encontra-se presente no mercado numa combinação de 0,064% timol, 0,092% eucaliptol, 0,042% mentol e 0,06% metilsalicilato, diluídos numa solução hidroalcoólica contendo 21,5% de álcool (Wilkins, 2005).



Figura 1 – Elixir com óleos essenciais, Listerine menta fresca

3.2.3.2 O delmopinol

O delmopinol, agente activo do colutório Decapinol, (Fig. 2), começou a ser recentemente utilizado com indicação para a prevenção da gengivite,

constituindo um coadjuvante da higiene oral mecânica, quando tal é necessário. Demonstra possuir propriedades anti-inflamatórias, sendo de forma geral bem tolerado. (Eley, 1999).

Foi aprovado em 2005 para uso na forma de colutório oral, pela *Food and Drug Administration* (FDA) nos EUA. A eficácia deste agente baseia-se no facto de interferir na formação da matriz bacteriana actuando num conceito misto de anti-adesão e de remoção da placa bacteriana (Lindhe *et al.*, 2003).



Figura 2 – Decapinol, colutório com delmopinol.

O delmopinol é um amino-álcool com propriedades hidrofílicas e lipofílicas. Possui reduzida acção antiséptica, agindo de forma a alterar a produção de ácidos pelas bactérias. Interfere na formação da matriz bacteriana, ajustando-se ao conceito de inibição da agregação bacteriana, tendo demonstrado ser eficaz contra a placa bacteriana e a gengivite (Addy, 1998; Eley, 1999).

Foi observada acção antiséptica após a utilização de delmopinol a 0,2%, apesar de fraca, resultando numa redução da vitalidade bacteriana, quer em bactérias existentes na forma de biofilme quer na forma planctónica,

no entanto o número total de bactérias não foi reduzido (Claydon *et al.*, 1996; Burgemeister *et al.*, 2001).

O delmopinol possui o potencial para interagir com os constituintes da película adquirida e inibir o *Streptococcus mutans* (Rundegren *et al.*, 1992; Freitas-Fernandes *et al.*, 2001). As enzimas bacterianas extra-celulares (glucosiltransferases e frutossil transferases) são destruídas pelo delmopinol, que não demonstrou possuir efeitos secundários na flora oral ou criar resistências bacterianas (Bussac, 1999).

O delmopinol apresenta, *in vitro*, uma grande afinidade com a hidroxiapatite coberta por saliva e com a película adquirida criada de forma artificial (Steinberg *et al.*, 1992).

O facto de inibir a adesão bacteriana leva à formação de um biofilme mais solto da superfície dentária e das mucosas, podendo ser facilmente removido por meios mecânicos de higiene oral ou mesmo pelos movimentos naturais realizados pela língua, mucosa jugal e bolo alimentar (Rundegren *et al.*, 1992; Klinge *et al.*, 1996; Eley, 1999).

Alguns efeitos adversos são a dormência da língua, a alteração do paladar, xerostomia e uma leve pigmentação. Estes efeitos são transitórios e diminuem com a continuidade do uso do produto (Addy, 1998; Eley, 1999). Está contra-indicado em indivíduos com hipersensibilidade ao delmopinol. Por existirem poucos estudos e por estes serem inconclusivos, a sua utilização é contra-indicada em mulheres grávidas e em amamentação.

Eriksson *et al.* em 1998, observou que, após o bochecho com 10 ml de colutório contendo delmopinol, foi possível recuperar 72% da solução original por expulsão de saliva, e que a restante porção foi rapidamente absorvida e eliminada. De facto da dose total, 25% foi recuperada na urina, sendo 80% da dose absorvida excretada num período de 8 horas (Eriksson *et al.*, 1998).

A eficácia tem sido avaliada e resulta, principalmente, numa redução, significativa do índice de placa bacteriana e de hemorragia à sondagem (Hase *et al.*, 1998b). Quando utilizado na forma de elixir oral em concentrações de 0,05%, 0,1% e 0,2%, o delmopinol mostrou ser eficaz, em

estudos de curta e longa duração, quer para a redução da formação de placa bacteriana quer como agente antigengivite,

Foram encontrados em diversos estudos valores de redução de placa bacteriana na ordem de 23% para delmopinol a 0,05%; 39% para a concentração de 0,1% e de 13% a 55% para a concentração de 0,2%. A redução de hemorragia variou entre 17% e 36% com o uso de delmopinol a 0,2% (Collaert *et al.*, 1992a; Claydon *et al.*, 1996; Addy *et al.*, 2007).

Zee *et al.*, em 1997, realizaram um ensaio clínico, duplamente cego, em que concluíram que o delmopinol, em concentrações de 0,1% e 0,2%, diminuía os valores de hemorragia gengival e placa bacteriana em 59% e 60% respectivamente, quando comparado com um elixir placebo (Zee *et al.*, 1997). Baehni, em 1992, demonstrou que o delmopinol é, também, capaz de prevenir a formação de placa bacteriana, sendo capaz de a dissolver em testes laboratoriais (Baehni e Takeuchi, 2003).

Burgemeister *et al.* observaram, num estudo laboratorial, que a vitalidade bacteriana diminuiu de forma relevante com a utilização de delmopinol a 0,2%, quer nas bactérias de forma planctónica quer nas bactérias aderidas às superfícies dentárias. Quando a concentração era menor, (0,05%), a vitalidade só diminuiu nas bactérias aderidas (Burgemeister *et al.*, 2001).

4. Métodos de estudo do efeito de elixires e colutórios antisépticos na cavidade oral

Como referido anteriormente, a utilização de elixires ou colutórios como coadjuvantes da remoção mecânica da placa bacteriana deve ser considerada, pelos profissionais de saúde oral, no âmbito de uma estratégia de prevenção e controlo dos problemas orais dos pacientes. A maioria dos indivíduos não executa a escovagem, ou o fio dentário, pelo período de tempo e com a destreza necessárias para garantir a sua eficácia, mesmo

após instrução e motivação higiénica (Beals *et al.*, 2000; Ciancio, 2003; Santos, 2003). Como consequência desta inadequação dos cuidados de higiene oral, a placa bacteriana acumula-se e é o factor etiológico da doença periodontal e da cárie dentária. A utilização de elixires com óleos essenciais e colutórios com delmopinol tem demonstrado ser eficaz no controlo do desenvolvimento da placa bacteriana e na prevenção da gengivite (Baehni e Takeuchi, 2003).

O estabelecimento de regras para o estudo da eficácia de produtos e instrumentos de higiene oral sobre a gengivite e a acumulação de placa bacteriana foi bem definido nas *Acceptance Program Guidelines*, criadas pela *American Dental Association* (ADA, 1997; ADA, 1999; ADA, 2003; ADA, 2006; ADA, 2007; ADA, 2008).

Estas regras, organizadas em diversos temas, apresentam indicações sobre o planeamento e a avaliação de diferentes tipos de estudos laboratoriais e clínicos, para testar a eficácia de elixires e colutórios sobre a placa bacteriana e a gengivite.

O estudo de elixires e colutórios em ambiente laboratorial, permite testar a eficácia na inibição de microrganismos orais de um produto antiséptico oral. O objectivo da avaliação microbiológica da placa bacteriana é o de determinar se existem alterações na flora oral, provocadas pelos produtos em estudo (ADA, 2008).

4.1 Avaliação laboratorial

A colheita de placa bacteriana para o estudo laboratorial deve ser realizada em dois pontos do estudo, aquando da recolha de dados de *baseline* e no fim do período experimental. A amostra deve ser obtida de uma superfície dentária previamente estabelecida, de forma a garantir um processo sistemático de recolha da amostra. O registo de amostras obtidas laboratorialmente deve ser feito em unidades formadoras de colónias por mililitro (CFU/ml).

Quando se pretende avaliar a eficácia de um produto experimental em placa bacteriana não específica, as amostras colhidas da cavidade oral devem ser cultivadas num meio nutritivo genérico. Caso se pretenda estudar a eficácia do produto numa bactéria específica, deve-se utilizar meios de cultura selectivos, apropriados para isolar o microrganismo de interesse. A informação microbiológica deve ser obtida, no mínimo, de amostras de placa bacteriana supragengival (ADA, 2008).

Laboratorialmente, a avaliação da resistência bacteriana e a capacidade de inibição de crescimento bacteriano deve ser efectuada pelo estudo da concentração mínima inibitória, através do método de difusão de disco (ADA, 2008). Neste teste a substância a ser testada é impregnada num disco de papel absorvente e a área de inibição de crescimento bacteriano que surge em torno desse disco é medida (Fig. 3).

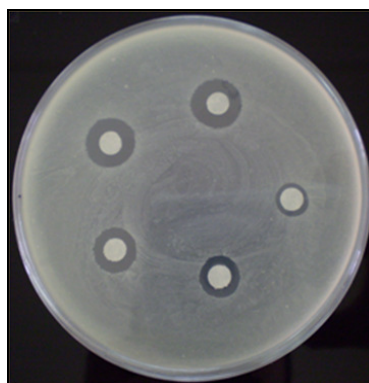


Figura 3 – Exemplo de inibição de crescimento bacteriano em torno dos discos de papel

4.2 Avaliação clínica

Os estudos clínicos, devidamente aprovados por uma comissão de ética, devem ser desenhados de modo a demonstrarem a eficácia dos elixires e colutórios na redução da acumulação de placa bacteriana e da gengivite.

O desenho do estudo deve garantir que a cada participante é efectuado um exame oral completo, antes do início do ensaio clínico, para avaliação das condições orais existentes. A cavidade oral deve ser observada de forma cuidada na primeira consulta do estudo, e devem ser avaliados os

critérios de inclusão e exclusão, além de ser obtido o consentimento informado. (ADA, 1997). Toda a informação das variáveis clínicas de interesse deve ser obtida em dois pontos do estudo, o primeiro na consulta de *baseline* e o segundo ponto no final do ensaio clínico, podendo no entanto ser feita uma recolha de informação num ponto de tempo intermédio do estudo (ADA, 2006).

O desenho do estudo deve assegurar que o tamanho da amostra é o apropriado para permitir a realização de testes estatísticos, utilizando um nível de significância de 1% ou 5% e um poder estatístico, sempre que possível, de 80%. Sempre que a amostra preencha os requisitos do Teorema Limite Central devem ser utilizados testes estatísticos paramétricos para o estudo dos dados. Quando os requisitos não são preenchidos os testes devem ser não-paramétricos (ADA, 2007).

A duração do estudo varia de acordo com o objectivo desejado. De acordo com a *American Dental Association*, se um fabricante de um produto pretende demonstrar que o mesmo possui características antisépticas deve realizar um ensaio clínico com a duração mínima de 6 meses (ADA, 2008). Para o estudo clínico do efeito de um elixir ou colutório, já comercializado, sobre a gengivite e a placa bacteriana a duração do estudo pode ser menor, estando documentado o período de duas semanas como adequado para avaliar a eficácia de elixires e colutórios na saúde gengival, na acumulação de placa bacteriana e na flora oral (Collaert et al., 1992a; Collaert et al., 1992b; Abbott et al., 1994; Collaert et al., 1994; Hase et al., 1995; Fine et al., 2000; Sekino e Ramberg, 2005; Fine et al., 2007a; Fine et al., 2007b).

A selecção de participantes do estudo deve ser feita a partir da população que, potencialmente, usaria o produto experimental, o qual deve ser testado seguindo as instruções do fabricante, não sendo obrigatória a supervisão da utilização por parte do investigador. Deve ser garantida a participação de indivíduos de ambos os sexos e de diferentes grupos etários, e a sua distribuição pelos grupos experimentais deve ser aleatória (ADA, 2008).

Os participantes nos grupos experimentais e de controlo devem ser adultos, em bom estado de saúde geral, sem lesões de patologia oral e devem possuir características homogéneas no que respeita a condições orais, número de dentes observados, severidade de doença oral e higiene oral comparável (ADA, 1997). Os participantes não podem, durante o estudo, tomar medicação que altere os parâmetros gengivais, nem o devem ter feito no mês anterior à sua participação no estudo (ADA, 2008).

As variáveis clínicas relativas à presença de placa bacteriana e de gengivite devem ser avaliadas de acordo com índices reconhecidos pela comunidade científica e amplamente testados, descritos de seguida.

4.2.1 Índices de placa bacteriana

A avaliação da acumulação de placa bacteriana deve ser realizada pelo uso de um índice de placa bacteriana reconhecido (ADA, 2008). A observação do índice de placa bacteriana seleccionado deve ser realizada em cada ponto de avaliação do estudo, sendo a escolha do índice condicionada pelas suas características, o objectivo do estudo, o tamanho da amostra e a duração do estudo (ADA, 2007).

Os índices mais utilizados, na prática clínica, fazem a caracterização da acumulação de placa bacteriana em termos de quantidade de placa ou de área do dente coberta e possuem uma definição de critérios suficientemente pormenorizada para permitirem a detecção de diferenças entre variáveis que afectam o desenvolvimento e o crescimento da placa bacteriana (Fischman, 1986).

Geralmente a visualização da placa bacteriana ocorre pela aplicação de uma solução corante, como o soluto de eritrosina a 6%, que permite a coloração antes da determinação do índice. Pode também ser utilizada uma sonda periodontal ou uma sonda exploradora.

Um dos índices mais antigos, utilizados em estudos científicos, é o índice criado por Greene e Vermillion em 1964. Este Índice de Higiene Oral

(OHI) avalia a presença de depósitos moles, entre os quais a placa bacteriana, nas superfícies vestibulares dos dentes. Existe uma versão simplificada do índice (OHI-S) que consiste na observação dos seis dentes índice de Ramfjord (16; 11; 26; 36; 31 e 46). A superfície coberta pelos depósitos moles é avaliada pela utilização da extremidade da sonda periodontal ou de uma sonda exploradora ao longo da superfície, classificando-a de acordo com o seguinte critério: 0 – ausência de depósitos moles ou mancha extrínseca; 1 – depósitos moles cobrindo não mais do que um terço da superfície observada ou presença de mancha extrínseca, sem depósitos moles, em qualquer zona da superfície observada; 2 – depósitos moles presentes em mais de um terço mas não mais do que dois terços da superfície observada e 3 – depósitos moles presentes em mais do que dois terços da superfície observada (Fischman, 1986; Wilkins, 2005).

O índice OHI tem-se revelado pouco indicado para utilização em estudos clínicos com participantes nos quais a acumulação de placa bacteriana é reduzida, pois o critério é pouco detalhado de modo a encontrar diferenças significativas entre o grupo experimental e o grupo de controlo. Revela também pouca discriminação na informação sobre a acumulação de placa bacteriana junto à área gengival da superfície dentária (Fischman, 1986).

O índice de placa bacteriana de Quigley e Hein (1962), modificado por Turesky (1970) consiste na avaliação da presença de depósitos moles na superfície dentária e resulta da observação da placa bacteriana, corada com uma solução de eritrosina a 6%. A modificação proposta por Turesky permite uma melhor descrição de depósitos de placa ligeiros.

É considerado como um índice eficaz e fiável na medição de acumulação de placa bacteriana, pela avaliação da área da superfície dentária coberta. A observação das superfícies vestibulares e linguais proporciona um método abrangente para a avaliação de técnicas mecânicas e químicas de controlo de placa bacteriana, sendo capaz de detectar

diferenças na acumulação de placa bacteriana no terço gengival do dente (Fischman, 1986).

Para a realização do índice são observados todos os dentes presentes, excepto os terceiros molares, num máximo de 28 dentes. Após a aplicação do corante de eritrosina as superfícies vestibulares e linguais são observadas, correspondendo a um máximo de 56 superfícies (Wilkins, 2005). A cada superfície é atribuído um valor de índice, de acordo com os critérios que se apresentam na Tabela 2.

Valor	Critério
0	Sem placa bacteriana
1	Placa bacteriana pontual na zona cervical
2	Banda fina contínua de placa bacteriana, até 1mm, na margem cervical
3	Banda maior do que 1 mm, mas menor do que 1/3 da coroa
4	Banda maior do que 1/3 da coroa mas menos do que 2/3 da coroa
5	Placa bacteriana que cobre 2/3 ou mais da coroa do dente

Tabela 2 – Critérios do índice de placa bacteriana de Quigley e Hein (1962), modificado por Turesky et al. (1970)

Visualmente os critérios são correspondentes aos da Figura 4.

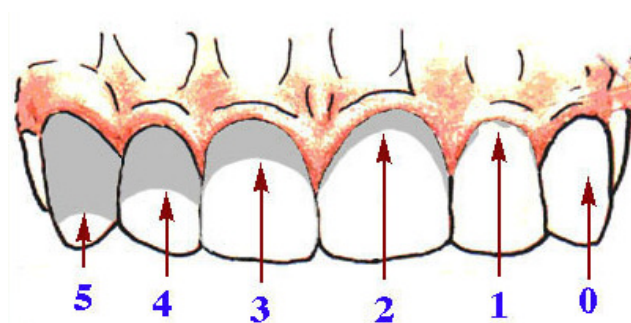


Figura 4: Critérios do índice de placa bacteriana de Quigley e Hein (1962), modificado por Turesky et al. (1970).

(retirado de <http://www.whocollab.od.mah.se/expl/ohituresky70.html> pela Organização Mundial da Saúde, consultado na World Wide Web a 28 de Dezembro de 2008. Reproduzido com autorização do autor)

O cálculo do valor do índice de placa bacteriana de Quigley e Hein modificado por Turesky, por indivíduo, é realizado pela soma dos valores de cada superfície dividida pelo número total de superfícies observadas. O valor de grupo é obtido pela soma dos valores individuais, divididos pelo número

total de indivíduos observados. Valores de 0 ou 1 são considerados de baixa acumulação de placa bacteriana e valores superiores a 2 são considerados de elevada acumulação de placa bacteriana (WHO, 2008).

O'Leary em 1967 sugeriu a aplicação de um método de avaliação de placa bacteriana com a observação das superfícies vestibulares e linguais de todos os dentes, avaliados por quadrante. A cada quadrante é dado um valor, o mais elevado, resultante da observação de todos os dentes presentes, de acordo com o seguinte critério: 0 – ausência de placa bacteriana em todos os dentes do quadrante; 1 – presença ligeira de placa bacteriana, que não excede os 2mm além da margem gengival, em qualquer dente do quadrante, 2 – placa bacteriana presente até um terço da coroa clínica em qualquer dente do quadrante e 3 – placa bacteriana presente em mais de metade da coroa clínica de qualquer dente do quadrante observado. O valor final do índice é obtido pela soma dos valores de cada quadrante, dividido pelo número de quadrantes observados. Este índice sobrevaloriza o terço incisal da coroa em detrimento do terço gengival, pelo que os valores obtidos podem não ser os mais adequados para o estudo da acumulação de placa bacteriana, em ensaios clínicos de avaliação de eficácia de métodos mecânicos e químicos (Fischman, 1986).

Um outro índice, aceite para aplicação em ensaios clínicos, foi desenvolvido por Silness e Løe em 1964, denominado de Índice de Placa (PII) (Fischman, 1986; Wilkins, 2005). A metodologia deste índice baseia-se na observação de todos os dentes presentes na cavidade oral ou de dentes previamente seleccionados, tendo sido extensivamente aplicado em ensaios clínicos para a avaliação de técnicas mecânicas e químicas de controlo de placa bacteriana (Fischman, 1986). A realização do índice é efectuada pela passagem da extremidade da sonda periodontal ou sonda exploradora pela superfície do dente, ou pela aplicação de corante. São observadas, para cada dente, quatro áreas cervicais (mesial, vestibular, distal e lingual) após o que é atribuído um valor, de 0 a 3, a cada uma das áreas, sendo 0 – ausência de placa bacteriana; 1 – presença de placa bacteriana na zona cervical do dente, avaliada por corante ou pela utilização de uma sonda; 2 –

acumulação moderada de placa bacteriana na zona cervical do dente, visível a olho nu; 3 – acumulação severa de placa bacteriana na zona cervical do dente com grande acumulação na zona interproximal (Wilkins, 2005). O valor do índice, por dente, é obtido pela soma dos valores de cada uma das suas áreas, dividido pelo número de áreas observado (Fischman, 1986). O índice pode ser realizado para todos os dentes da cavidade oral ou para grupos de dentes, organizados em incisivos, pré-molares e molares, indicando um valor do Índice de Placa para cada grupo de dentes (Wilkins, 2005). Quando se pretende o valor total para a dentição completa, os valores de cada dente são somados e, posteriormente, divididos pelo número total de dentes observados, indicando o valor do índice para o indivíduo (Wilkins, 2005).

O PII tem sido criticado pela subjectividade de classificação entre o critério 2 e 3, e pela dificuldade em dois observadores concordarem na classificação de acumulação moderada e severa, pelo que, para efeitos de aplicação em ensaios clínicos, é aconselhado a realização de treino de registo do índice (Fischman, 1986).

Os métodos de avaliação de placa bacteriana criados por Silness e Løe e de Quigley Hein e Turesky têm sido considerados, pela *American Dental Association*, como os mais adequados para a determinação da capacidade de redução de acumulação de placa bacteriana (Fischman, 1986).

4.2.2 Índices gengivais

Os índices gengivais são utilizados para descrever a saúde ou doença do periodonto. Todos os índices utilizam, para a avaliação do periodonto, um ou mais dos seguintes critérios: a) cor da gengiva; b) contorno gengival; c) hemorragia gengival; d) quantificação do envolvimento gengival e e) fluxo do fluido gengival (Ciancio, 1986).

O índice gengival de Løe & Silness, foi desenvolvido em 1963 com o objectivo de descrever, baseado na cor e hemorragia à sondagem, a

severidade da inflamação gengival e permitir obter a sua localização (Wilkins, 2005). Os critérios do índice estão apresentados na Tabela 3.

Valor	Critério
0	Gengiva saudável
1	Pequena alteração de cor, sem hemorragia à sondagem
2	Gengiva vermelha e edemaciada, com hemorragia à sondagem
3	Gengiva vermelha, edemaciada e ulcerada, hemorragia espontânea

Tabela 3 – Critérios do índice gengival de Løe & Silness (Wilkins, 2005)

São seleccionados os 6 dentes a observar – dentes índice de Ramfjord - ou os seus substitutos respectivos (17; 21; 27; 37; 41; 47), sendo observadas quatro áreas gengivais por dente: mesial, vestibular, distal e lingual.

O procedimento para a aplicação do índice consiste em secar o dente e a gengiva e sob condições clínicas de iluminação, utilizar um espelho e uma sonda periodontal ao longo do sulco gengival para a avaliação da hemorragia. De acordo com a observação, um valor do critério é atribuído a cada área gengival observada. O valor final de índice para um indivíduo é obtido pela soma dos valores de cada área observada, dividida pelo número total de áreas. Para um grupo de indivíduos, o valor de índice consiste na soma dos valores individuais, dividida pelo número total de indivíduos no grupo (Wilkins, 2005).

A classificação dos indivíduos relativamente à saúde gengival é obtida pelos resultados do índice estando organizada da forma que se apresenta na Tabela 4.

Classificação de saúde gengival	Valor de índice
Excelente (saudável)	0
Boa	0,1 – 1,0
Razoável	1,1 – 2,0
Má	2,1 – 3,0

Tabela 4 - Classificação de saúde gengival pelo índice gengival de Løe & Silness (Wilkins, 2005)

Muhlemann e Mazor em 1958 criaram um índice que avalia a hemorragia gengival, denominado de *Sulcus Bleeding Index* (SBI). O SBI permite localizar as zonas do sulco gengival e interproximal com hemorragia, após a passagem de uma sonda periodontal, indicando a presença dos primeiros sinais de um processo inflamatório. São observadas quatro zonas em cada dente, mesial, vestibular, distal e lingual, agrupados numa zona marginal (vestibular e lingual) e papilar (mesial e distal), sendo atribuídos os seguintes valores: 0 – gengiva marginal e papilar aparentemente saudável, sem hemorragia à sondagem; 1 – gengiva marginal e papilar aparentemente saudável, com hemorragia à sondagem; 2 – hemorragia à sondagem e alteração de cor gengival; 3 – hemorragia à sondagem, alteração de cor e edema ligeiro; 4 – hemorragia à sondagem, alteração de cor e edema óbvio; e 5 – hemorragia espontânea, alteração de cor, edema evidente ou ulceração (Ciancio, 1986; Wilkins, 2005). Mais tarde, em 1977, Muhlemann modificou o SBI resultando num índice de hemorragia papilar (interproximal) denominado de *PBI Papillary Bleeding Index* (Ciancio, 1986). O PBI avalia a hemorragia interproximal, após a sondagem suave com uma sonda periodontal, de acordo com os seguintes valores: 0 – papila interdentária sem hemorragia à sondagem; 1 – papila interdentária com somente um ponto de hemorragia presente; 2 – papila interdentária com vários pontos de hemorragia isolados; 3 – triângulo interdentário preenchido com sangue e 4 – hemorragia intensa que se prolonga para a gengiva marginal (Ciancio, 1986).

De entre os índices utilizados para a obtenção de informação sobre a saúde gengival interproximal, salientam-se o Índice Gengival Modificado de Lobene *et al.*, (1986) e o Índice de Hemorragia de Saxton e Ouderaa, (1989) (ADA, 2008).

O Índice Gengival Modificado, criado em 1986 por Lobene *et al.*, consiste na observação da gengiva do paciente procurando sinais de inflamação. É um índice muito sensível para a detecção de sinais inflamatórios da gengiva, não contemplando a presença de hemorragia. O critério de registo do índice, indicado na Tabela 5, permite determinar a presença de inflamação ligeira e moderada na gengiva marginal ou na papila

interdentária, em 28 dentes (exclui os terceiros molares) e 108 superfícies gengivais – 52 papilas interdentárias e 56 margens (Lobene *et al.*, 1986).

Valor	Critério
0	Ausência de inflamação.
1	Inflamação ligeira, pequena alteração de cor e textura.
2	Inflamação ligeira em toda a área da gengiva.
3	Inflamação moderada, edema e cor alterada moderada.
4	Inflamação severa, edema e cor alterada de forma severa, hemorragia espontânea e ulceração.

Tabela 5 – Critério do Índice Gengival Modificado de Lobene *et al.* (1986)

O Índice de Hemorragia de Saxton & Ouderaa, foi criado em 1989 com o objectivo de permitir a avaliação da saúde gengival. Vinte e oito dentes são observados, utilizando uma sonda periodontal de CPITN. Esta sonda, introduzida pela Organização Mundial de Saúde, possui uma extremidade arredondada de 0,5 mm, que reduz o risco de trauma do tecido gengival (Wilkins, 2005). A tendência de hemorragia é avaliada após secagem da gengiva e pela introdução da sonda no sulco gengival numa profundidade de aproximadamente um milímetro, movimentando-a ao longo do sulco num ângulo de aproximadamente sessenta graus em relação ao maior eixo do dente. As superfícies disto-vestibular, vestibular, lingual e méso-lingual são observadas. A hemorragia detectada trinta segundos após a sondagem é registada (Saxton e van der Ouderaa, 1989). Os critérios do índice podem ser observados na Tabela 6.

Critério	Descrição
0	Sem hemorragia após 30 segundos.
1	Hemorragia após 30 segundos.
2	Hemorragia imediata.

Tabela 6 – Critérios do Índice de Hemorragia de Saxton & Ouderaa. (1989)

★

Os estudos laboratoriais e clínicos efectuados no âmbito do presente trabalho de doutoramento seguiram as indicações apresentadas pelas

Acceptance Program Guidelines, emitidas pelo *Council on Scientific Affairs* da ADA: *Chemotherapeutic Products for Control of Gingivitis* (ADA, 2008); *Dental Floss or Other Interdental Cleaners* (ADA, 2006) e *Adjunctive Dental Therapies for the Reduction of Plaque and Gingivitis* (ADA, 1997).

*Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas
Bactérias da Placa Bacteriana*

Capítulo II - Objectivos

O objectivo geral desta investigação consistiu na avaliação e comparação da eficácia de um elixir contendo óleos essenciais e de um colutório à base de delmopinol. A eficácia dos produtos mencionados foi avaliada através de testes laboratoriais (*in vitro*) e de ensaios clínicos (*in vivo*).

Nos testes laboratoriais procurou-se determinar a actividade antibacteriana dos produtos. Esta foi estabelecida pelo cálculo da concentração mínima inibitória e pela inibição do crescimento bacteriano, ambos obtidos pelo método de difusão de disco. Desta forma, realizaram-se dois estudos laboratoriais. No primeiro estudo determinou-se a concentração mínima inibitória do elixir contendo óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol. No segundo estudo determinou-se a capacidade de inibição do crescimento bacteriano dos dois produtos. Em ambos os estudos utilizaram-se espécies bacterianas específicas, nomeadamente *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus*; e espécies bacterianas inespecíficas, aeróbias e anaeróbias. Todas as bactérias foram isoladas a partir de amostras de placa bacteriana humana supra e subgingival.

Nos ensaios clínicos realizados procurou-se obter informações sobre o efeito dos produtos nos níveis de gengivite e de acumulação de placa bacteriana. Estes foram medidos através de parâmetros clínicos e laboratoriais. O foco do primeiro ensaio recaiu sobre a placa bacteriana das superfícies dentárias vestibulares, enquanto o do segundo ensaio recaiu sobre a placa bacteriana das superfícies interproximais.

Finalmente, foi também realizado um inquérito sobre atitudes e comportamentos relativos aos hábitos alimentares e à utilização dos produtos testados nos ensaios clínicos.

Nos capítulos seguintes irão ser apresentados separadamente os vários estudos mencionados atrás, incluindo os respectivos objectivos específicos e hipóteses de estudo, materiais e métodos, resultados, discussão e conclusões.

*Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas
Bactérias da Placa Bacteriana*

Capítulo III - Estudos Realizados

1. Estudo Laboratorial I

1.1 Objectivos

O objectivo específico do Estudo Laboratorial I consistiu na:

- a) Determinação da concentração mínima inibitória do crescimento de colónias de *Streptococcus mutans*, de *Lactobacillus*, de bactérias aeróbias e de bactérias anaeróbias, pelo método de difusão de disco, de um elixir contendo óleos essenciais e de um colutório à base de delmopinol.

A partir deste objectivo foram formuladas as seguintes hipóteses experimentais:

1.1.1 H_0 : A concentração mínima inibitória do crescimento de colónias de *Streptococcus mutans*, determinada pelo método de difusão de disco, de um elixir contendo óleos essenciais é igual ou superior à concentração comercial do mesmo;

H_1 : A concentração mínima inibitória do crescimento de colónias de *Streptococcus mutans*, determinada pelo método de difusão de disco, de um elixir contendo óleos essenciais é inferior à concentração comercial do mesmo;

1.1.2 H_0 : A concentração mínima inibitória do crescimento de colónias de *Lactobacillus*, determinada pelo método de difusão de disco, de um elixir contendo óleos essenciais é igual ou superior à concentração comercial do mesmo;

H_1 : A concentração mínima inibitória do crescimento de colónias de *Lactobacillus*, determinada pelo método de difusão de disco, de um

elixir contendo óleos essenciais é inferior à concentração comercial do mesmo;

1.1.3 H_0 : A concentração mínima inibitória do crescimento de colônias de bactérias aeróbias, determinada pelo método de difusão de disco, de um elixir contendo óleos essenciais é igual ou superior à concentração comercial do mesmo;

H_1 : A concentração mínima inibitória do crescimento de colônias de aeróbias, determinada pelo método de difusão de disco, de um elixir contendo óleos essenciais é inferior à concentração comercial do mesmo;

1.1.4 H_0 : A concentração mínima inibitória do crescimento de colônias de bactérias anaeróbias, determinada pelo método de difusão de disco, de um elixir contendo óleos essenciais é igual ou superior à concentração comercial do mesmo;

H_1 : A concentração mínima inibitória do crescimento de colônias de bactérias anaeróbias, determinada pelo método de difusão de disco, de um elixir contendo óleos essenciais é inferior à concentração comercial do mesmo;

1.1.5 H_0 : A concentração mínima inibitória do crescimento de colônias de *Streptococcus mutans*, determinada pelo método de difusão de disco, de um colutório à base de delmopinol é igual ou superior à concentração comercial do mesmo;

H_1 : A concentração mínima inibitória do crescimento de colônias de *Streptococcus mutans*, determinada pelo método de difusão de disco, de um colutório à base de delmopinol é inferior à concentração comercial do mesmo;

1.1.6 H_0 : A concentração mínima inibitória do crescimento de colônias de *Lactobacillus*, determinada pelo método de difusão de disco, de um

colutório à base de delmopinol é igual ou superior à concentração comercial do mesmo;

H₁: A concentração mínima inibitória do crescimento de colónias de *Lactobacillus*, determinada pelo método de difusão de disco, de um colutório à base de delmopinol é inferior à concentração comercial do mesmo;

1.1.7 H₀: A concentração mínima inibitória do crescimento de colónias de bactérias aeróbias, determinada pelo método de difusão de disco, de um colutório à base de delmopinol é igual ou superior à concentração comercial do mesmo;

H₁: A concentração mínima inibitória do crescimento de colónias de bactérias aeróbias, determinada pelo método de difusão de disco, de um colutório à base de delmopinol é inferior à concentração comercial do mesmo;

1.1.8 H₀: A concentração mínima inibitória do crescimento de colónias de bactérias anaeróbias, determinada pelo método de difusão de disco, de um colutório à base de delmopinol é igual ou superior à concentração comercial do mesmo;

H₁: A concentração mínima inibitória do crescimento de colónias de bactérias anaeróbias, determinada pelo método de difusão de disco, de um colutório à base de delmopinol é inferior à concentração comercial do mesmo;

1.2 Materiais e Métodos

Os estudos laboratoriais foram realizados com amostras de placa bacteriana humana. A recolha das amostras, provenientes dos participantes no ensaio clínico I, foi realizada na clínica de higiene oral da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa. O processamento microbiológico foi efectuado no Laboratório de Microbiologia do Instituto Piaget de Almada (Fig. 5).



Figura 5 – Panorâmica do Laboratório de Microbiologia do Instituto Piaget de Almada

1.2.1 Métodos de colheita, preparação e isolamento dos espécimes

A colheita, acondicionamento e transporte das amostras de placa bacteriana, assim como o trabalho laboratorial foi desenvolvido pelo investigador, entre Abril de 2007 e Setembro de 2008, contando, no caso do trabalho laboratorial, com o apoio dos técnicos de laboratório do Instituto Piaget de Almada.

O processo de colheita, preparação e isolamento dos espécimes foi complexo e envolveu diversas etapas laboratoriais. Por uma questão de compreensão geral de todo o processo, as várias etapas são em seguida apresentadas, de forma esquemática (Fig. 6) e pela sua descrição pormenorizada.

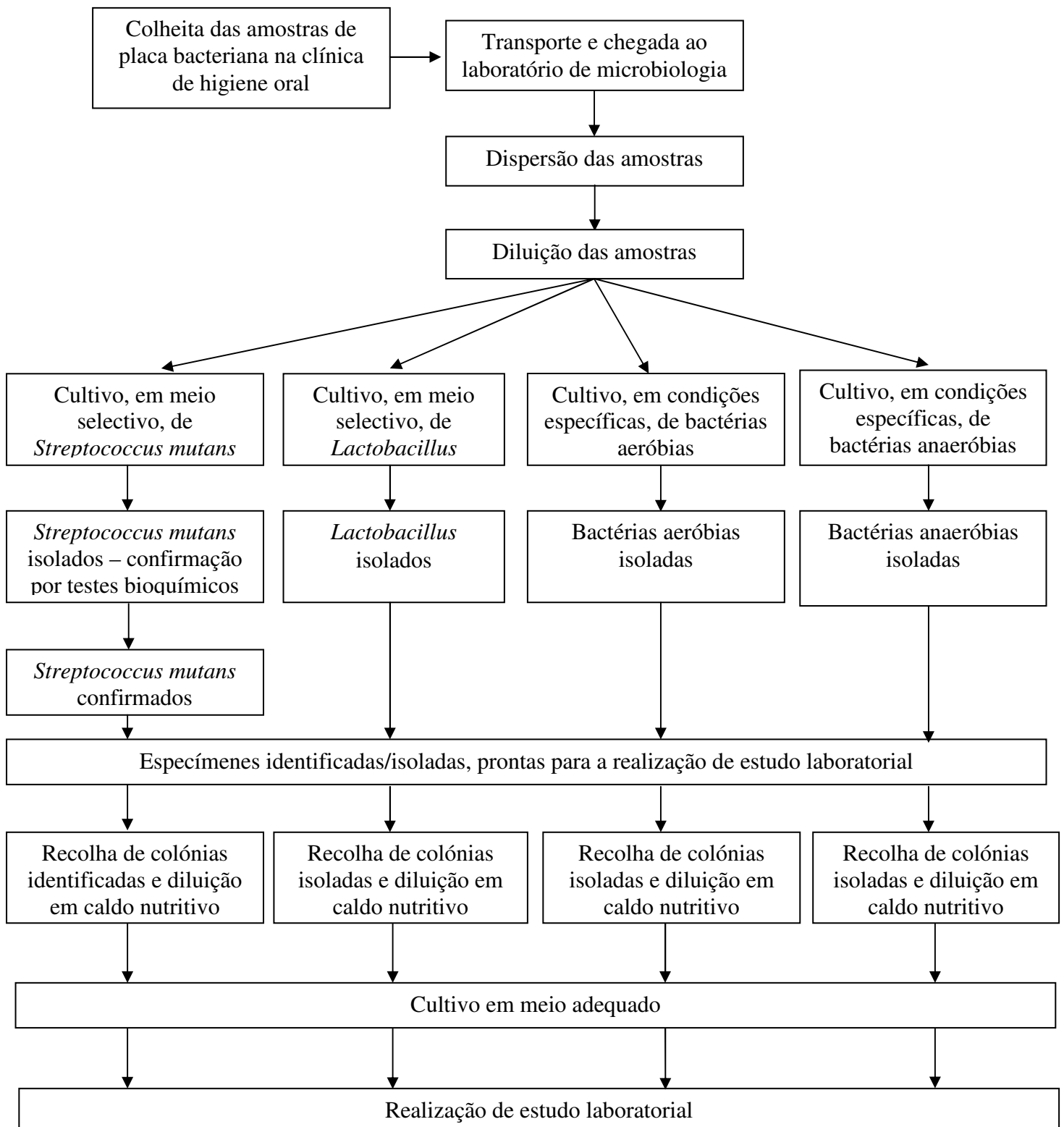


Figura 6 - Representação esquemática do processo de colheita, preparação e isolamento dos espécimes

1.2.1.1 Colheita de amostras

A colheita de amostras de bactérias orais ocorreu após a selecção de dois quadrantes da cavidade oral. Esses quadrantes apresentavam um mínimo de seis dentes, sendo um dos quadrantes utilizado para a recolha de uma amostra de placa bacteriana supragengival e o outro quadrante para a recolha da amostra subgengival.

As amostras de placa bacteriana supragengival foram obtidas da superfície vestibular de todos os dentes de um quadrante, utilizando uma zaragatoa, (BBL™ CultureSwab Plus™. Becton Dickinson, NJ, USA) que serviu também de meio de transporte da amostra para o Laboratório de Microbiologia do Instituto Piaget de Almada.

O sistema estéril, BBL™ CultureSwab Plus™, é adequado para colheita e transporte de microrganismos. O conjunto é composto por uma zaragatoa específica para a recolha das amostras e pelo tubo de transporte, que inclui 5 ml de meio de transporte (meio de amies), em forma de gel. O sistema pode ser observado na Figura 7.

O gel de amies é indicado para a manutenção da viabilidade de organismos aeróbios e anaeróbios. A ausência de carvão activado, característica deste gel de transporte, facilitou a contagem bacteriana após o cultivo das bactérias, uma vez que as colónias ficaram visíveis mais facilmente (Hoover e Newbrun, 1977).



Figura 7: BBL™ CultureSwab Plus™. Courtesy and © Becton, Dickinson and Company.

Reproduzido com autorização do fabricante.

As amostras de placa bacteriana subgengival, colhidas após remoção da placa bacteriana e tártaro supragengival com uma cureta esterilizada,

foram obtidas pelo uso de pontas de papel absorvente esterilizadas, (Spik, Viannini Dental Industry, Grassina, Itália). Estas foram colocadas no sulco gengival dos dentes de um quadrante, por um período de 30 segundos. As pontas utilizadas foram as de tamanho ISO 45, adequadas para a recolha de amostras de placa bacteriana subgengival (Hartroth *et al.*, 1999).

Depois de colhida a amostra, as pontas de papel foram colocadas nos mesmos recipientes do BBL™ CultureSwab Plus™, mas sem a zaragatoa. As pontas de papel penetravam facilmente o meio de transporte o que assegurava a viabilidade bacteriana.

1.2.1.2 Preparação dos espécimes – dispersão das amostras

Após a chegada ao laboratório de microbiologia iniciou-se a preparação das amostras supragengivais e subgengivais para o seu cultivo.

O procedimento para a preparação das amostras supragengivais iniciou-se pela remoção da zaragatoa, com a placa bacteriana, do tubo de transporte. Este processo decorreu no interior da câmara de fluxo laminar, para impedir a contaminação da amostra durante a manipulação laboratorial.

A extremidade da zaragatoa, com a amostra de placa bacteriana, foi colocada num tubo de ensaio que continha 10 ml de soluto de Ringer (solução salina isotónica) esterilizado e, de seguida, mecanicamente dispersa durante 30 segundos num aparelho de vórtex (Heidolph – ReaxTop, Schwabach, Germany) na velocidade máxima (Fig. 8). Este processo permitiu a dispersão das bactérias no soluto de Ringer, procedimento essencial para o seu cultivo.



Figura 8 – Vórtex para dispersão das amostras bacterianas

A preparação das amostras subgengivais, iniciou-se pela remoção das pontas de papel do tubo de transporte do BBL™ CultureSwab Plus™ com uma pinça esterilizada. Este procedimento foi igualmente realizado na câmara de fluxo laminar pelas razões apresentadas anteriormente. De seguida colocaram-se os cones de papel num tubo de ensaio com 10 ml de soluto de Ringer esterilizado, procedendo-se como descrito para as amostra supragengivais, de modo a obter a dispersão no soluto de Ringer das bactérias da placa bacteriana presentes no cone de papel.

Uma vez dispersas as amostras no soluto de Ringer, foi dado início ao procedimento, igual para ambos os tipos de amostras, de cultivo e isolamento das bactérias para o estudo laboratorial.

1.2.1.2.1 Preparação dos espécimes – diluição das amostras

Antes do cultivo bacteriano procedeu-se à diluição das amostras dispersas mecanicamente. A necessidade de diluição das amostras prende-se com o facto de permitir a observação clara do crescimento bacteriano nas placas de Petri.

Foi retirado, com uma pipeta (Calibra digital, Socorex, Lausanne, Switzerland), (Fig. 9) 1 ml do soluto de Ringer onde estavam as amostras dispersas mecanicamente e foi colocado num outro tudo de ensaio com 9 ml

de soluto de Ringer previamente autoclavado. Obtiveram-se assim as diluições decimais de 10^{-1} , posteriormente semeadas nos meios de cultura colocados em placas de Petri.



Figura 9 – Pipeta laboratorial

As placas de Petri (Fig. 10) foram identificadas com a informação de data de colheita, tipo de meio de cultura e bactéria.



Figura 10 – Placas de Petri para a sementeira das amostras bacterianas

Após a colocação dos meios indicados para o crescimento de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus*, bactérias aeróbias e bactérias anaeróbias nas placas de Petri procedeu-se à sementeira bacteriana.

*

Os procedimentos laboratoriais para o isolamento de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus*, e cultivo de bactérias aeróbias e bacterias anaeróbias são apresentados de seguida.

1.2.1.3 Isolamento de espécimes - *Streptococcus mutans*

O isolamento de *Streptococcus mutans* decorreu a partir das amostras de placa bacteriana supra e subgengival, após diluição decimal da amostra inicial dispersa mecanicamente. Após cultivo em meio selectivo procedeu-se à confirmação de identidade das bactérias por meio de testes bioquímicos.

1.2.1.3.1 Cultura em meio selectivo

O isolamento de *Streptococcus mutans* ocorreu pela cultura das amostras de placa bacteriana num meio específico para o crescimento de *Streptococcus*, denominado de Agar Mitis Salivarius (Difco™, Franklin Lakes, NJ, USA). Este meio torna-se selectivo para *Streptococcus mutans* pela adição de bacitracina e sacarose, mas não dispensa a validação de identificação por testes bioquímicos (Ellen *et al.*, 1980).

O Agar Mitis Salivarius (Fig. 11) tem na sua composição digesto pancreático de caseína, protease de peptona No.3, dextrose, sacarose, fosfato dipotássio, azul de trypan, violeta de metilo e agar.



Figura 11 – Meio específico para *Streptococcus*, Agar Mitis Salivarius

O meio Agar Mitis Salivarius foi preparado, num balão de erlenmeyer com capacidade para 2 litros, pela diluição de 90g do meio comercial em 1 litro de água destilada esterilizada. A esta mistura foram adicionadas 150 gramas de sacarose para uso laboratorial. O meio de cultura foi levado a ebulição durante 1 minuto, num agitador magnético com aquecimento (Agimatic-N, JP Selecta, Barcelona, España) (Fig.12). Seguidamente foi autoclavado por 15 minutos a 121 °C.



Figura 12 – Agitador magnético com aquecimento

Após a autoclavagem, arrefeceu-se o preparado num aparelho de banho-maria controlado com termóstato de imersão (Tectron Bio, JP Selecta, Barcelona, España) (Fig. 13) até atingir a temperatura de 50 °C.



Figura 13 – Termóstato de imersão em aparelho de banho-maria

Seguidamente, pesou-se 13,5 mg de bacitracina A Vetrinal (em pó), numa balança de precisão de 0,1 mg (Precisa Gravimetrics XT 220A, Dietikon, Switzerland) (Fig. 14) e dissolveu-se em 5 ml de água destilada esterilizada, sendo depois adicionada ao meio Agar Mitis Salivarius, já a 50°C, até a obtenção da concentração final de 0,2 UI/ml. Depois deste processo o meio Agar Mitis Salivarius encontra-se pronto para ser utilizado.



Figura 14 – Balança de precisão Gravimetrics XT 220A

Após o procedimento de distribuição do Agar Mitis Salivarius pelas placas de Petri e gelificação (20 ml de meio por placa), aquele apresenta-se de cor azul brilhante, com um pH de $7,0 \pm 0,2$.

Após a colocação do meio em placas de Petri procedeu-se à sementeira das amostras bacterianas. A sementeira seguiu um protocolo laboratorial rígido, de modo a assegurar a assépsia da actividade de sementeira. As placas de Petri, encontravam-se preparadas com meio de cultura estéril, pelo que, no interior da câmara de fluxo laminar, abriu-se a placa de Petri correspondente à amostra que se pretendia semear e colocou-se, com uma pipeta, 0,5 ml do soluto de Ringer de cada tipo de bactéria na placa. Repetiu-se o processo tantas vezes quantas as amostras colhidas, e semeou-se, utilizando um semeador de vidro, com movimentos circulares.

Após serem semeadas as placas, de Petri foram colocadas, com a tampa virada para baixo, dentro das jarras de anaerobiose (Fig. 15) com as respectivas saquetas (AnaeroGen™, Oxoid, Cambridge, UK) por 48 horas à temperatura de 37°C, numa incubadora (Incudigit, JP Selecta, Barcelona, España) (Fig. 16).



Figura 15 – Jarras de anaerobiose



Figura 16 – Incubadora Incudigit para placas de Petri

O cultivo de *Streptococcus mutans* foi efectuado em anaerobiose, pois esta é a técnica adequada para o desenvolvimento laboratorial desta espécie bacteriana (Hoover e Newbrun, 1977).

Após o período de incubação, as colónias características de *Streptococcus mutans* apresentavam-se pequenas, translúcidas e com depósito de dextrano esbranquiçado e com aspecto brilhante ao redor.

1.2.1.3.2 Identificação por testes bioquímicos

Antes de se proceder aos testes laboratoriais com as colónias de *Streptococcus mutans* foi necessário fazer a confirmação de características da espécie, através da realização de uma série de testes bioquímicos. Os testes utilizados foram o teste de fermentação de manitol, o teste de reacção hemolítica, o teste da catalase e o teste de coloração de Gram, que se apresentam de seguida (Gradwohl *et al.*, 1970).

Para a realização destes testes procedeu-se à recolha de colónias bacterianas, com características de *Streptococcus mutans* utilizando uma ansa de inoculação.

Uma ansa de inoculação é o instrumento laboratorial indicado para retirar uma colónia isolada de microrganismos de uma placa de Petri e repicar uma outra placa ou inocular uma cultura líquida.

1.2.1.3.2.1 Teste de fermentação de manitol

O Agar de Sal de Manitol é um meio selectivo para os estafilococos e estreptococos devido à elevada concentração de cloreto de sódio (7,5 %), que somente aquelas bactérias suportam (Gradwohl *et al.*, 1970).

Por conter manitol, um poliálcool derivado da manose, é também um meio diferencial para *Staphylococcus aureus*, que o fermenta (tal como acontece com o *Streptococcus mutans*), ao contrário dos estafilococos não patogénicos.

A acumulação dos produtos de fermentação do manitol, pelas bactérias, acidifica o meio, e o indicador de pH presente neste meio (vermelho de fenol) altera de vermelho para amarelo, originando colónias amarelas rodeadas de um halo amarelo.

Procedimento laboratorial

Em condições de esterilidade, retirou-se com a ansa uma colónia, com características de *Streptococcus mutans*, do meio Agar Mitis Salivarius e repicou-se para o meio Agar de Sal de Manitol. A repicagem é feita pelo método de estria em quadrante (Fig. 17). Após incubação em anaerobiose a 37°C durante 24 horas observou-se a ocorrência de fermentação do manitol, característica dos *Streptococcus mutans*, pela alteração do meio de vermelho para amarelo.

Esta fermentação pode ser observada na Figura 18, onde se compara uma placa de Petri vermelha com o meio comercial, com uma placa de Petri, amarela, onde ocorreu a fermentação.

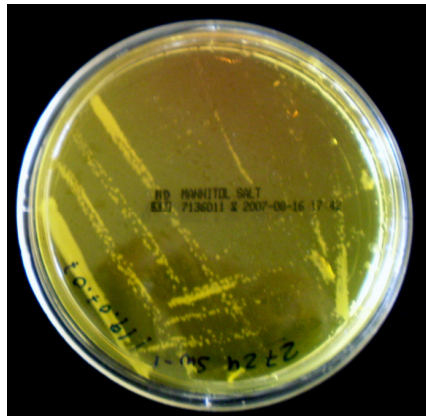


Figura 17 – Exemplo de repicagem pelo método de estria em quadrante

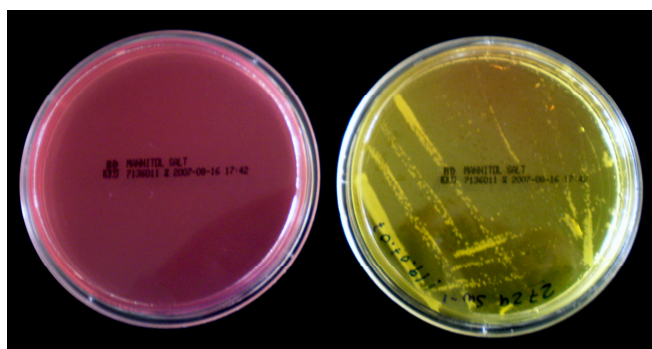


Figura 18 – Placas de Petri com o Agar de Sal de Manitol, antes e após fermentação

1.2.1.3.2.2 Teste de reacção hemolítica

O teste da reacção hemolítica foi realizado com o gel comercial Columbia Agar com 5% de sangue de carneiro. Este gel, de cor vermelha, está especialmente concebido para facilitar o crescimento de microrganismos fastidiosos. Tendo como suplemento o sangue de carneiro, é altamente nutritivo e portanto adaptado à cultura do *Streptococcus mutans* (Gradwohl *et al.*, 1970).

Procedimento laboratorial

Em condições de esterilidade foi retirada, com uma ansa, uma colónia de *Streptococcus mutans* do meio Agar Mitis Salivarius e repicada para o meio Columbia Agar com 5% de sangue de carneiro. A repicagem foi feita pelo método de estria em quadrante. Após incubar as placas a 37°C durante 24 horas em anaerobiose, foi possível verificar a ocorrência de hemólise no meio, como uma zona mais clara junto às colónias bacterianas (Fig. 19) características do *Streptococcus mutans*.

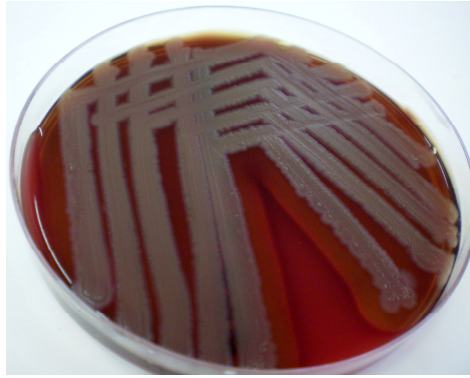


Figura 19 – Hemólise no meio Columbia Agar com 5% de sangue de carneiro

1.2.1.3.2.3 Teste da catalase

A catalase é uma enzima intracelular, encontrada na maioria dos organismos, que decompõe o peróxido de hidrogénio (Gradwohl *et al.*, 1970).

O teste da catalase consiste na detecção da enzima catalase em bactérias, servindo essencialmente para a distinção entre estafilococos e estreptococos. Este teste não deve ser efectuado com bactérias cultivadas em agar com sangue, uma vez que a hemoglobina produz resultados positivos (Gradwohl *et al.*, 1970). O resultado do teste é obtido pela observação da ocorrência, ou não, de efervescência. Caso surja efervescência, o organismo é catalase-positivo (caso dos estafilococos), se não surgir efervescência, o organismo é catalase-negativo (caso dos estreptococos). A efervescência ocorre pela libertação do oxigénio molecular do peróxido de hidrogénio na reacção da catalase (Gradwohl *et al.*, 1970).

Procedimento laboratorial

Em condições de controlo ambiental, dentro da câmara de fluxo laminar, foram pipetadas duas gotas (relativamente distantes uma da outra) de água oxigenada (peróxido de hidrogénio) sobre uma lâmina. Foi colhida uma colónia característica de *Streptococcus mutans* do meio selectivo Agar Mitis Salivarius com uma ansa de inoculação e feito um esfregaço numa das gotas. A outra gota ficou intacta, servindo como controlo positivo. Os

resultados (efervescência/não-efervescência) foram observados. Sendo o *Streptococcus mutans* catalase negativo não foi observada efervescência.

1.2.1.3.2.4 Teste de coloração de Gram

A coloração de Gram é um dos métodos mais comuns de coloração em microbiologia. Permite a diferenciação de bactérias em Gram-positivas e Gram-negativas. Neste método de coloração, as bactérias Gram-positivas adquirem uma cor violeta e as Gram-negativas uma cor vermelha (Gradwohl *et al.*, 1970).

A coloração de Gram consiste em tratar bactérias, sucessivamente, com cristal violeta, lugol, álcool-acetona e fuccina (ou safranina). A alteração de cor ocorre devido às propriedades químicas e fisiológicas das bactérias, o cristal violeta e o lugol formam um complexo denominado iodopararosanilina, o qual confere coloração roxa tanto às bactérias Gram-positivas, quanto às Gram-negativas. Com a adição de álcool-acetona, as bactérias Gram-negativas liberam esse complexo, pois a camada de peptidoglicano é de menor espessura, enquanto as Gram-positivas retêm o complexo, permanecendo roxas. A adição de fuccina (ou safranina) não altera a cor das Gram-positivas, mas confere a cor avermelhada as bactérias Gram-negativas, que foram descoloradas pelo álcool-acetona (Gradwohl *et al.*, 1970).

Procedimento laboratorial

Após obtenção de esfregaço de uma colônia de *Streptococcus mutans* cobriu-se o mesmo, com uma solução de cristal violeta durante 1 minuto. Seguidamente lavou-se com soluto de lugol e deixou-se actuar durante 1 minuto. Após este tempo lavou-se com água corrente e descorou-se com álcool-acetona até que não saiu mais cor violeta do esfregaço. Lavou-se com água corrente e cobriu-se a superfície com solução de contra-coloração

(safranina ou fuccina diluída) durante 1 minuto. Lavou-se com água corrente e deixou-se secar. A lâmina foi observada ao microscópio com objectiva de imersão. As colónias de *Streptococcus mutans* revelaram-se Gram-positivas.

Após a realização dos testes bioquímicos as colónias de *Streptococcus mutans* estavam identificadas e confirmadas, podendo ser utilizadas para o estudo laboratorial.

*

1.2.1.4 Isolamento de espécimes – *Lactobacillus*

O isolamento de *Lactobacillus* decorreu a partir das amostras de placa bacteriana supra e subgengival, após diluição decimal da amostra inicial, cultivadas em meio de cultura selectivo.

1.2.1.4.1 Cultura em meio selectivo

O isolamento de *Lactobacillus* ocorreu pela utilização do Agar Rogosa SL (Scharlau, Barcelona, España) (Fig. 20) com adição de ácido acético glacial, o que tornou o meio selectivo para *Lactobacillus*.

O Agar Rogosa SL possui na sua composição os seguintes componentes: triptona; extracto de levedura; dextrose; arabinose; sacarose; acetato de sódio; citrato de amónio; fosfato monopotássico; sulfato de magnésio; sulfato de manganês; sulfato de ferro; polisorbato 80 e agar. O pH final depois de o meio preparado é de $5,4 \pm 0,2$, apresentando uma cor bege opaca quando colocado em placas de Petri.

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana



Figura 20 – Meio específico para *Lactobacillus*, Agar Rogosa SL

Para o cultivo de *Lactobacillus*, o meio Agar Rogosa SL foi preparado a partir do meio comercial, pela diluição de 75g de meio para 1 litro de água destilada, num balão de Erlenmeyer com capacidade para 2 litros. O meio de cultura foi levado a ebulição, num agitador com aquecimento, apresentado anteriormente, sendo agitado constantemente, por uma barra para agitação magnética, até ficar completamente dissolvido.

Após completa dissolução do meio a alta temperatura com agitação, foi adicionado, utilizando uma pipeta, 1,32 ml de ácido acético glacial.

De acordo com as instruções do fabricante para a preparação deste meio de cultura, não se procedeu à esterilização por autoclavagem, pelo que após a adição do ácido, deixou-se o meio em ebulição durante 3 minutos. Só após este período de tempo se fez a distribuição de 20 ml do meio pelas placas de Petri, para posterior arrefecimento e gelificação.

As amostras bacterianas dispersas iniciais foram diluídas em 9 ml de soluto de Ringer, previamente autoclavado, do modo descrito anteriormente no cultivo bacteriano. Obteve-se assim as amostras para serem semeadas em placas de Petri contendo o Agar Rogosa SL.

A sementeira seguiu um processo laboratorial rígido, de modo a assegurar a assépsia da actividade. As placas de Petri encontravam-se

preparadas e, no interior da câmara de fluxo laminar, foram inoculadas, utilizando uma pipeta, com 0,5 ml do soluto de Ringer de cada amostra, tendo-se repetido o processo tantas vezes quantas as amostras colhidas. Após a distribuição do soluto com a amostra sobre o meio Agar Rogosa SL, procedeu-se à sementeira, utilizando um semeador de vidro fazendo movimentos circulares, num processo em tudo semelhante ao descrito na sementeira de *Streptococcus mutans*.

As placas, com a tampa virada para baixo, foram incubadas em jarras de anaerobiose com as respectivas saquetas (AnaeroGen™, Oxoid, Cambridge, UK) por 72 horas a 37°C. O cultivo de *Lactobacillus* foi efectuado em anaerobiose, pois esta é a técnica adequada para o desenvolvimento laboratorial desta espécie bacteriana (Hoover e Newbrun, 1977).

Depois de semeadas e após o período de incubação, as colónias características de *Lactobacillus* apresentavam-se de dimensão variável (pequenas, médias ou grandes), brilhantes e esbranquiçadas, podendo ser utilizadas em estudos laboratoriais.

1.2.1.5 Isolamento de espécimes - bactérias aeróbias e anaeróbias

O isolamento de bactérias aeróbias e anaeróbias foi realizado a partir das amostras de placa bacteriana supra e subgingival, após diluição da amostra dispersa inicial resultante da zaragatoa e das pontas de papel absorvente, respectivamente.

1.2.1.5.1 Cultura em meio não selectivo

O meio de cultura utilizado foi um meio genérico, não selectivo, tendo a diferenciação do tipo de bactérias decorrido pelas condições de crescimento a que foram submetidas as amostras.

O meio de cultura, denominado de *Brain Heart Infusion Agar* (Scharlau, Barcelona, España) (Fig. 21) é um meio genérico para bactérias

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

fastidiosas. Possui na sua composição extracto de cérebro, extracto de coração, protease de peptona, cloreto de sódio, fosfato dissódico, dextrose e agar.

O meio *Brain Heart Infusion Agar* foi preparado no laboratório pela diluição de 52g de meio comercial em 1000ml de água destilada esterilizada, num balão de erlenmeyer com capacidade para 2 litros. O meio diluído foi levado à ebulição durante 1 minuto num agitador magnético com aquecimento, mencionado anteriormente, até ficar completamente dissolvido. Após a dissolução, o meio *Brain Heart Infusion Agar* foi esterilizado em autoclave a 120°C durante 15 minutos. Após a preparação, o meio apresentava-se de cor âmbar opaco claro com um pH de $7,2 \pm 0,2$.

O meio preparado foi repartido em placas de Petri, aproximadamente 15ml de meio por placa.



Figura 21 – Meio genérico, *Brain Heart Infusion Agar*

A sementeira de bactérias seguiu um processo laboratorial igual ao descrito anteriormente. Este procedimento foi efectuado em duplicado uma vez que se pretendiam isolar as bactérias aeróbias e as bactérias anaeróbias.

Para obtenção de bactérias aeróbias promoveu-se o seu crescimento em condições de aerobiose na incubadora anteriormente referida, pelo período de 24 horas a 37°C. Para a obtenção das bactérias anaeróbias, as

placas de Petri foram incubadas em jaras de anaerobiose com as respectivas saquetas, durante o mesmo período de tempo.

1.2.2 Metodologia de determinação da concentração mínima inibitória, por meio de discos de difusão:

Uma vez obtidas colónias de *Streptococcus mutans*, devidamente identificadas, de *Lactobacillus*, de bactérias aeróbias e de bactérias anaeróbias foi dado início ao trabalho laboratorial de determinar a concentração mínima inibitória do crescimento das várias colónias, pelo método de difusão de disco, de um elixir contendo óleos essenciais e de um colutório à base de delmopinol.

1.2.2.1 Teste de concentração mínima inibitória

O teste de concentração mínima inibitória, em discos de papel absorvente, identifica a menor concentração de um produto capaz de evitar o crescimento bacteriano visível e deve ser realizado, no mínimo, em três placas independentes cultivadas com a mesma espécie bacteriana. Este método, conhecido por teste de difusão em agar ou método de difusão por disco, é eficaz na avaliação do efeito de um agente antiséptico em bactérias (Andrews, 2001).

Quando a inibição de crescimento bacteriano se observa em concentrações que estão no máximo separadas por uma diluição, a concentração mais elevada é considerada como sendo a concentração mínima inibitória (Fass et al., 1975; Reeks et al., 2005).

Para a realização do teste é necessário obter um “tapete” de crescimento bacteriano num meio de cultura que permita observar as zonas de inibição.

A descrição do meio de cultura, a preparação das placas de Petri para a realização do teste de concentração mínima inibitória, o cultivo bacteriano e

subsequente colocação de discos e a metodologia de leitura dos resultados de inibição são apresentados de seguida.

1.2.2.1.1 Preparação do meio de cultura

Uma vez que o objectivo foi o de semear as bactérias isoladas num meio de cultura, com vista ao crescimento do “tapete” bacteriano, foi necessário, primeiro, obter a diluição das colónias bacterianas já isoladas, de modo a que pudéssemos de seguida proceder à sua cultura. Para esta diluição foi utilizado um caldo nutritivo genérico, não selectivo, denominado de *Nutrient Broth*.

O *Nutrient Broth* (com a denominação comercial de *Nutrient Broth M002* - Himedia Labs, Mumbai, India) é um caldo nutritivo para uso laboratorial, utilizado para o crescimento e manutenção de microrganismos (Fig.22).

Este meio possui na sua composição os seguintes componentes, digesto péptico de tecidos animais, cloreto de sódio, extracto de carne e extracto de levedura. Apresenta, depois de preparado, uma consistência líquida pois não possui qualquer gel na sua composição.



Figura 22 – Meio de cultura nutritivo, *Nutrient Broth*

O caldo nutritivo foi preparado pela diluição de 13 g de meio comercial *nutrient broth* em 1000 ml de água destilada, num balão de erlenmeyer com capacidade para 2 litros. O meio de cultura foi aquecido, de forma a facilitar a diluição, num agitador magnético com aquecimento, até ficar completamente dissolvido, apresentando-se de cor de âmbar límpido com um pH de $7,2 \pm 0,2$.

Após dissolução colocou-se em tubos de ensaio e esterilizou-se em autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

As colónias identificadas como *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus*, bactérias aeróbias e anaeróbias foram retiradas, com uma ansa, das placas de Petri onde estavam isoladas e colocadas nos tubos de ensaio (tubos diferentes para as diferentes colónias) contendo 10 ml de *nutrient broth*. De seguida foram incubadas em condições adequadas para cada amostra, a 37 °C durante um período mínimo de 4 horas.

Uma vez incubadas, as amostras foram semeadas em placas de Petri preparadas com o meio *Brain Heart Infusion*, descrito anteriormente, para o crescimento do tapete bacteriano.

1.2.2.1.2 Preparação das placas de Petri

As placas de Petri foram marcadas, na tampa, com o nome do meio *Brain Heart Infusion* (em iniciais) com o nome do produto (elixir com óleos essenciais ou colutório à base de delmopinol) utilizado nos discos de papel absorvente com 6mm de diâmetro e respectivas diluições e com o nome da cultura bacteriana utilizada. No verso da placa foi efectuada a divisão da área em cinco partes semelhantes e em cada uma dessas áreas foi escrita qual a concentração do produto que aí se encontrava, Fig. 23.

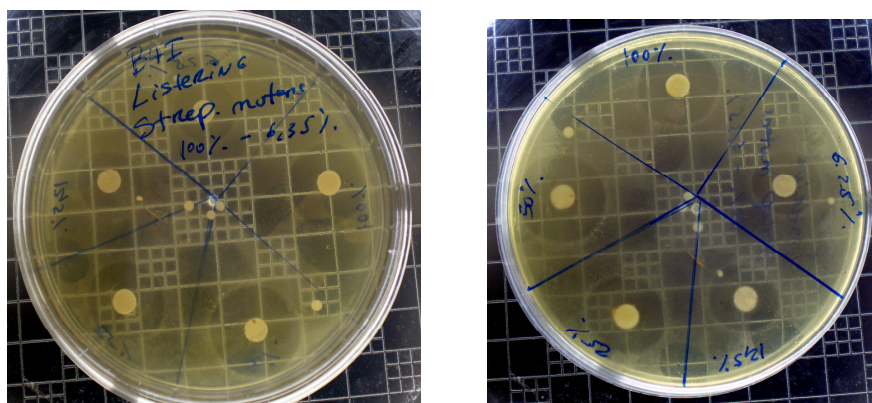


Figura 23 – Exemplo de marcação das placas de Petri para a realização do teste de concentração mínima inibitória

1.2.2.1.3 Cultivo bacteriano e colocação dos discos de difusão

O processo de sementeira bacteriana, nas placas de Petri, seguiu o protocolo laboratorial de modo a assegurar a assepsia da actividade de sementeira. As placas de Petri, com meio de cultura estéril, foram abertas no interior da câmara de fluxo laminar, e colocou-se, com uma pipeta, 0,5 ml do *Nutrient Broth* com a amostra bacteriana sobre o meio *Brain Heart Infusion*, gelificado na placa e semeou-se, utilizando um semeador de vidro, com movimentos circulares. Este processo foi efectuado para as diferentes amostras em diferentes placas de Petri.

Para a realização do teste de concentração mínima inibitória foram utilizados discos de papel absorvente, nos quais foi colocado o produto em teste e as suas diluições. Estes discos de papel foram posteriormente colocados nas placas de Petri onde se encontrava semeada a bactéria a ser testada, ou seja, em cada placa foram colocados (nas marcações previamente efectuadas) 5 discos de papel absorvente embebidos em 5 diluições consecutivas do produto experimental (100%, 50%, 25%, 12,5% e 6,25%), numa outra placa continuou-se o teste com as diluições seguintes (3,12%, 1,56%, 0,78%, 0,39% 0,19%).

A diluição dos produtos testados foi efectuada da seguinte forma. Num primeiro tudo de ensaio foi colocado 2ml do produto na concentração

comercial, que representou a solução a 100%, também denominada de solução mãe. Desta primeira solução foi retirado 1ml que foi colocado num segundo tubo de ensaio, que continha 1 ml de água destilada esterilizada, resultando numa solução a 50%. O processo foi repetido sucessivamente até ser obtida a décima diluição, a 0,19%, como se representa na Figura 24.

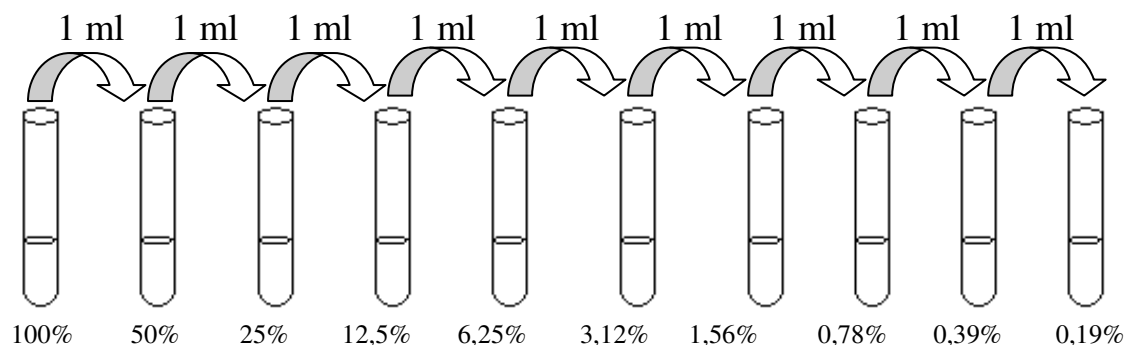


Figura 24 – Procedimento de diluição sucessiva do produto experimental

As placas de Petri contendo as amostras e os discos foram incubadas a 37 °C durante 24 horas, para o *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus*, bactérias aeróbias e anaeróbias, tendo as placas de Petri sido colocadas invertidas de acordo com a prática laboratorial adequada.

1.2.2.1.4 Leitura dos resultados de inibição de crescimento

Após o período de incubação os halos de inibição resultantes apresentavam-se uniformemente circulares num “tapete” confluyente de crescimento bacteriano. Caso esta situação não ocorresse as amostras não eram consideradas adequadas para o teste de concentração mínima inibitória (NCCLS, 2003).

Um halo de inibição (Fig. 25) é a área sem crescimento bacteriano detectável a olho nu. O crescimento de pequenas colónias bacterianas, na margem do halo de inibição, detectável apenas com uma lente de aumento foi ignorado (NCCLS, 2003). As placas de Petri apresentavam as diferentes áreas de inibição dependendo da concentração do produto, (Fig. 26).

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

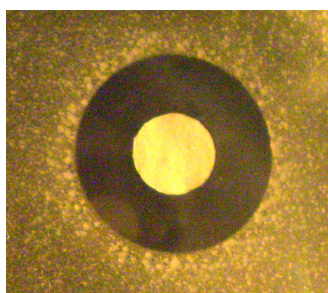


Figura 25 – Exemplo de um halo de inibição de crescimento bacteriano

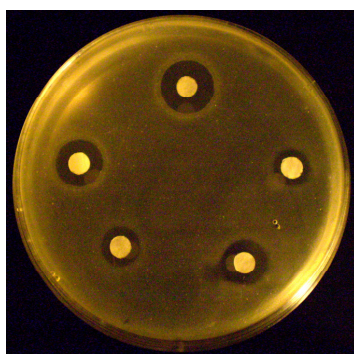


Figura 26 – Exemplo de placa de Petri com halos de inibição de crescimento bacteriano

1.2.3 Determinação da concentração mínima inibitória

Os dados recolhidos foram observados em diferentes números de placas de Petri, sempre superiores ao número mínimo de 3 placas que deve ser utilizado neste tipo de teste (Andrews, 2001). Estas diferenças surgiram por razões laboratoriais, relacionadas com a obrigatoriedade de presença de um “tapete” bacteriano completo na superfície do agar (NCCLS, 2003).

O número de amostras estudadas pode ser observado na Tabela 7.

Tratamento	Tipo de bactéria			
	Aeróbias	Anaeróbias	<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Lactobacillus</i>
Óleos Essenciais	9	9	16	21
Delmopinol	14	19	15	21

Tabela 7 – Número de amostras observadas por tipo de bactérias, para cada produto testado.

As variáveis de estudo consistiram nos produtos em teste, o elixir com óleos e essenciais e o colutório à base de delmopinol, nas suas diluições sucessivas (50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78%, 0,39% e 0,19%) para avaliação de concentração mínima inibitória de crescimento bacteriano, e na observação da presença, ou não, do halo de inibição de crescimento bacteriano (halos) em torno de discos de papel absorvente.

Foi considerada concentração mínima inibitória, o valor da diluição do produto que, consistentemente, inibiu o crescimento para as diferentes amostras bacterianas nas diferentes placas de Petri testadas, seguindo o protocolo do teste (Fass *et al.*, 1975; Reeks *et al.*, 2005).

1.2.4 Metodologia da análise dos dados

A análise de dados não utilizou técnicas estatísticas uma vez que nos propusemos determinar qual o valor mínimo de diluição do produto comercial que possuía a capacidade de inibir o crescimento bacteriano.

As hipóteses de estudo foram avaliadas pela observação do valor mínimo de concentração do produto em estudo que inibiu o crescimento bacteriano. Se esse valor se apresentou inferior à concentração comercial do produto, a hipótese nula foi rejeitada.

1.3 Resultados

Os resultados obtidos no estudo da concentração mínima dos produtos experimentais, que resultou na inibição de crescimento de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus*, bactérias aeróbias e anaeróbias são apresentados na Tabela 8.

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

	Elixir com Óleos essenciais	Delmopinol
<i>Streptococcus mutans</i>	1,56%	0,78%
<i>Lactobacillus</i>	3,12%	1,56%
Bactérias aeróbias	6,25%	6,25%
Bactérias anaeróbias	6,25%	3,12%

Tabela 8 - Concentração mínima dos produtos experimentais necessária para a inibição de crescimento de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus*, bactérias aeróbias e anaeróbias pelo método de difusão em disco.

Verificou-se que em todos os tipos de bactérias a concentração mínima inibitória de crescimento bacteriano foi inferior à concentração comercial dos dois produtos testados (100%).

1.4 Discussão

No presente estudo verificou-se que, em condições laboratoriais e com o isolamento bacteriano, os produtos testados apresentam concentrações mínimas inibitórias muito inferiores à concentração comercial. Este facto pode ser resultante da maior susceptibilidade das bactérias isoladas a agentes antisépticos quando comparada com as bactérias organizadas na forma de placa bacteriana (Axelsson, 2002).

Os resultados obtidos neste estudo laboratorial não podem ser, directamente, comparados com alguns estudos efectuados, pois a metodologia aí utilizada não é semelhante, mas estão de acordo com os valores de concentração mínima inibitória obtidos pelo uso de um elixir com óleos essenciais variam de 4 a 32 diluições do produto comercial (Kato *et al.*, 1990).

Haffajee em 2008 estudou a concentração mínima inibitória de três antisépticos orais (Peridex, Listerine e The Natural Dentist) em diversas estripes bacterianas, entre as quais o *Streptococcus mutans*. O método de investigação consistiu na esterilização por filtragem dos bochechos, sendo o

produto obtido posteriormente diluído. No caso do elixir com óleos essenciais, este processo pode ter conduzido à redução da sua componente hidroalcoólica, o que impede a comparação da concentração mínima inibitória de 512 microgramas por mililitro encontrada nesse estudo, com a concentração mínima inibitória do produto comercial, testado no presente trabalho.

Num estudo desenvolvido por Elworthy em 1995, foi testada a concentração mínima inibitória de hidrocloreto de delmopinol, diluído em água destilada. Tendo sido encontrada a concentração mínima inibitória de hidrocloreto de delmopinol de 64 mg por litro para o *Streptococcus oralis* e de 128 mg por litro para *Streptococcus milleri*. Uma vez mais, e por razões de metodologia, não é possível comparar esses resultados com os resultados de inibição produzidos pelo produto comercial.

1.5 Conclusões

A partir dos resultados obtidos no estudo realizado podem retirar-se as seguintes conclusões, relacionadas com as várias hipóteses experimentais existentes.

- A concentração mínima inibitória do crescimento de colónias de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus*, bactérias aeróbias e bactérias anaeróbias determinada pelo método de difusão de disco, de um elixir contendo óleos essenciais é inferior à concentração comercial do mesmo;
- A concentração mínima inibitória do crescimento de colónias de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus*, bactérias aeróbias e bactérias anaeróbias determinada pelo método de difusão de disco, de um colutório à base de delmopinol é inferior à concentração comercial do mesmo.

*Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas
Bactérias da Placa Bacteriana*

2. Estudo Laboratorial II

2.1 Objectivos

Os objectivos específicos do Estudo Laboratorial II consistiram na:

- a) Avaliação e comparação da capacidade de inibição do crescimento de colónias de *Streptococcus mutans*, de *Lactobacillus*, de bactérias aeróbias e de bactérias anaeróbias, avaliada pelo método de difusão de disco, de um elixir contendo óleos essenciais, de um colutório à base de delmopinol e de um controlo positivo (elixir com 0,2% de clorohexidina);
- b) Comparação da capacidade de inibição do crescimento de colónias de *Streptococcus mutans*, de *Lactobacillus*, de bactérias aeróbias e de bactérias anaeróbias, avaliada pelo método de difusão de disco, de um elixir contendo óleos essenciais e de uma solução hidroalcoólica com concentração igual à do elixir;
- c) Comparação da capacidade de inibição do crescimento de colónias de *Streptococcus mutans*, de *Lactobacillus*, de bactérias aeróbias e de bactérias anaeróbias, avaliada pelo método de difusão de disco, de um colutório á base de delmopinol e de uma solução hidroalcoólica com concentração igual à do colutório.

A partir destes objectivos foram formuladas as seguintes hipóteses experimentais:

2.1.1 H₀: Não existem diferenças significativas entre os vários produtos testados relativamente à sua capacidade de inibição do crescimento de colónias de *Streptococcus mutans*, avaliada pelo método de difusão de disco;

H₁: Existem diferenças significativas entre os vários produtos testados relativamente à sua capacidade de inibição do crescimento de colónias de *Streptococcus mutans*, avaliada pelo método de difusão de disco;

2.1.2 H₀: Não existem diferenças significativas entre os vários produtos testados relativamente à sua capacidade de inibição do crescimento de colónias de *Lactobacillus*, avaliada pelo método de difusão de disco;

H₁: Existem diferenças significativas entre os vários produtos testados relativamente à sua capacidade de inibição do crescimento de colónias de *Lactobacillus*, avaliada pelo método de difusão de disco;

2.1.3 H₀: Não existem diferenças significativas entre os vários produtos testados relativamente à sua capacidade de inibição do crescimento de colónias de bactérias aeróbias, avaliada pelo método de difusão de disco;

H₁: Existem diferenças significativas entre os vários produtos testados relativamente à sua capacidade de inibição do crescimento de colónias de bactérias aeróbias, avaliada pelo método de difusão de disco;

2.1.4 H₀: Não existem diferenças significativas entre os vários produtos testados relativamente à sua capacidade de inibição do crescimento de colónias de bactérias anaeróbias, avaliada pelo método de difusão de disco;

H₁: Existem diferenças significativas entre os vários produtos testados relativamente à sua capacidade de inibição do crescimento de colónias de bactérias anaeróbias, avaliada pelo método de difusão de disco;

2.1.5 H₀: Não existem diferenças significativas entre um elixir contendo óleos essenciais e uma solução hidroalcoólica com concentração igual à do elixir relativamente à sua capacidade de inibição do crescimento de colónias de *Streptococcus mutans*, avaliada pelo método de difusão de disco;

H₁: Existem diferenças significativas entre um elixir contendo óleos essenciais e uma solução hidroalcoólica com concentração igual à do elixir relativamente à sua capacidade de inibição do crescimento de colónias de *Streptococcus mutans*, avaliada pelo método de difusão de disco;

2.1.6 H₀: Não existem diferenças significativas entre um elixir contendo óleos essenciais e uma solução hidroalcoólica com concentração igual à do elixir relativamente à sua capacidade de inibição do crescimento de colónias de *Lactobacillus*, avaliada pelo método de difusão de disco;

H₁: Existem diferenças significativas entre um elixir contendo óleos essenciais e uma solução hidroalcoólica com concentração igual à do elixir relativamente à sua capacidade de inibição do crescimento de colónias de *Lactobacillus*, avaliada pelo método de difusão de disco;

2.1.7 H₀: Não existem diferenças significativas entre um elixir contendo óleos essenciais e uma solução hidroalcoólica com concentração igual à do elixir relativamente à sua capacidade de inibição do crescimento de colónias de bactérias aeróbias, avaliada pelo método de difusão de disco;

H₁: Existem diferenças significativas entre um elixir contendo óleos essenciais e uma solução hidroalcoólica com concentração igual à do elixir relativamente à sua capacidade de inibição do crescimento de colónias de bactérias aeróbias, avaliada pelo método de difusão de disco;

2.1.8 H₀: Não existem diferenças significativas entre um elixir contendo óleos essenciais e uma solução hidroalcoólica com concentração igual à do elixir relativamente à sua capacidade de inibição do crescimento

de colónias de bactérias anaeróbias, avaliada pelo método de difusão de disco;

H₁: Existem diferenças significativas entre um elixir contendo óleos essenciais e uma solução hidroalcoólica com concentração igual à do elixir relativamente à sua capacidade de inibição do crescimento de colónias de bactérias anaeróbias, avaliada pelo método de difusão de disco;

2.1.9 H₀: Não existem diferenças significativas entre um colutório à base de delmopinol e uma solução hidroalcoólica com concentração igual à do colutório relativamente à sua capacidade de inibição do crescimento de colónias de *Streptococcus mutans*, avaliada pelo método de difusão de disco;

H₁: Existem diferenças significativas entre um colutório à base de delmopinol e uma solução hidroalcoólica com concentração igual à do colutório relativamente à sua capacidade de inibição do crescimento de colónias de *Streptococcus mutans*, avaliada pelo método de difusão de disco;

2.1.10 H₀: Não existem diferenças significativas entre um colutório à base de delmopinol e uma solução hidroalcoólica com concentração igual à do colutório relativamente à sua capacidade de inibição do crescimento de colónias de *Lactobacillus*, avaliada pelo método de difusão de disco;

H₁: Existem diferenças significativas entre um colutório à base de delmopinol e uma solução hidroalcoólica com concentração igual à do colutório relativamente à sua capacidade de inibição do crescimento de colónias de *Lactobacillus*, avaliada pelo método de difusão de disco;

2.1.11 H_0 : Não existem diferenças significativas entre um colutório à base de delmopinol e uma solução hidroalcoólica com concentração igual à do colutório relativamente à sua capacidade de inibição do crescimento de colónias de bactérias aeróbias, avaliada pelo método de difusão de disco;

H_1 : Existem diferenças significativas entre um colutório à base de delmopinol e uma solução hidroalcoólica com concentração igual à do colutório relativamente à sua capacidade de inibição do crescimento de colónias de bactérias aeróbias, avaliada pelo método de difusão de disco;

2.1.12 H_0 : Não existem diferenças significativas entre um colutório à base de delmopinol e uma solução hidroalcoólica com concentração igual à do colutório relativamente à sua capacidade de inibição do crescimento de colónias de bactérias anaeróbias, avaliada pelo método de difusão de disco;

H_1 : Existem diferenças significativas entre um colutório à base de delmopinol e uma solução hidroalcoólica com concentração igual à do colutório relativamente à sua capacidade de inibição do crescimento de colónias de bactérias anaeróbias, avaliada pelo método de difusão de disco;

2.2 Materiais e métodos

A recolha das amostras, provenientes dos participantes no ensaio clínico I, foi realizada na clínica de higiene oral da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa, tal como ocorreu no Estudo Laboratorial I. O processamento microbiológico foi, também, realizado no Laboratório de Microbiologia do Instituto Piaget de Almada.

2.2.1 Produtos testados

Para o desenvolvimento deste estudo laboratorial foi utilizado, além dos produtos de teste que consistiram no elixir com óleos essenciais e no colutório à base de delmopinol, um controlo positivo composto por um colutório de clorhexidina a 0,2%, uma solução hidroalcoólica a 21,5% e uma solução hidroalcoólica a 1,5%.

Um controlo positivo, para este tipo de estudo laboratorial, consiste num produto para o qual é reconhecida, pelo seu uso em experiências anteriores ou pela descrição na literatura, a capacidade de produzir resultados positivos para a inibição do crescimento bacteriano. Este controlo positivo confirma a obtenção de resultados de inibição de crescimento bacteriano, mesmo que os produtos em teste não os venham a obter e permite comprovar que a eventual ausência de inibição dos produtos teste não se deve a falhas metodológicas.

No delineamento experimental incluiu-se também um controlo negativo, neste caso, água destilada esterilizada. Este controlo negativo não vai inibir o crescimento bacteriano e serve para demonstrar que o procedimento laboratorial é o correcto pela obtenção de ausência de inibição de crescimento bacteriano.

No desenvolvimento deste estudo laboratorial foi também efectuada a comparação da concentração em álcool de cada produto experimental com o respectivo produto comercial, na capacidade de inibição de crescimento bacteriano. Assim, para o elixir com óleos essenciais comparámos a sua acção sobre amostras de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus*, bactérias aeróbias e bactérias anaeróbias com uma solução hidroalcoólica a 21,5% e para o colutório à base de delmopinol com uma solução hidroalcoólica a 1,5%.

Esta comparação foi realizada para subtrair o efeito do álcool, substância com propriedades antibacterianas comprovadas, na inibição do crescimento bacteriano e desta forma, estimar a inibição bacteriana adicional obtida somente pela presença dos princípios activos.

2.2.2 Métodos de colheita, isolamento e preparação dos espécimes

O processo de colheita, preparação e isolamento dos espécimes foi complexo e envolveu diversas etapas laboratoriais. Visto que na sua maior parte estes procedimentos são iguais aos realizados no Estudo Laboratorial I e já descritos anteriormente, nas secções seguintes serão descritos apenas os procedimentos específicos deste estudo.

2.2.2.1 Cultivo bacteriano e colocação dos discos de difusão

O processo de sementeira bacteriana, nas placas de Petri, seguiu o protocolo laboratorial descrito anteriormente, no Estudo Laboratorial I.

Não foram preparadas placas para a avaliação da inibição do crescimento bacteriano do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol pois foram medidas as inibições obtidas nas placas de Petri do Estudo Laboratorial I, correspondentes às concentrações comerciais do produto – 100%.

Para a realização do teste de inibição de crescimento bacteriano foram utilizados discos de papel absorvente com 6mm de diâmetro, nos quais foi colocado um dos produtos, nomeadamente clorhexidina a 0,2%, água destilada esterilizada, solução hidroalcoólica a 21,5% e solução hidroalcoólica a 1,5%.

Estes discos de papel foram posteriormente colocados em placas de Petri onde se encontrava semeada a bactéria a ser testada, ou seja, em cada placa foram colocados (nas marcações previamente efectuadas) 4 discos de papel absorvente.

As amostras foram incubadas a 37 °C durante 24 horas tendo as placas de Petri sido colocadas invertidas de acordo com a prática laboratorial adequada para cultivo do “tapete” bacteriano.

2.2.2.2 Leitura dos resultados de inibição de crescimento

Os resultados de inibição de crescimento bacteriano foram avaliados pela medição, em milímetros, do halo que se formou em redor do disco de papel absorvente.

Os halos de inibição total foram examinados e medidos, incluindo o diâmetro do disco de papel utilizando uma régua que foi encostada à parte de trás da placa de Petri invertida. Foi calculado um valor médio para as várias medições obtidas nas diferentes placas de Petri para a mesma estripe bacteriana.

2.2.3 Descrição das variáveis

Os dados recolhidos foram organizados, de acordo com a sua finalidade, em variáveis independentes e dependentes.

2.2.3.1 Variáveis independentes

As variáveis independentes consistiram nos produtos em teste, o elixir com óleos e essenciais e o colutório à base de delmopinol, no controlo positivo de clorhexidina a 0,2%, nas soluções hidroalcoólica com a concentração de 21,5% e 1,5% de etanol.

2.2.3.2 Variável dependente

A variável dependente corresponde aos efeitos causados pelas variáveis independentes, e consistiu na medição em mm do diâmetro de inibição de crescimento bacteriano em torno dos discos de papel absorvente.

Na Tabela 9 apresenta-se a variável dependente e respectiva escala de mensuração.

Variáveis dependentes	Escala de mensuração
Halo de inibição de crescimento bacteriano, em milímetros	Rácio ou razão

Tabela 9 – Variável dependente e respectiva escala de mensuração

2.2.4 Métodos de tratamento e análise de dados

Uma vez que o controlo negativo foi utilizado para controlar o procedimento laboratorial, não foram analisados os resultados de ausência de inibição de crescimento bacteriano obtidos por este controlo.

A análise dos dados obtidos neste estudo laboratorial utilizou dois tipos de testes estatísticos: testes paramétricos e testes não paramétricos.

Os testes paramétricos foram utilizados quando se verificou a distribuição normal dos dados obtidos das amostras. Esta verificação da normalidade da distribuição foi realizada pela aplicação do teste Kolmogorov-Smirnov.

Após a verificação da distribuição normal, e antes da aplicação dos testes paramétricos foi ainda averiguado o preenchimento dos pré-requisitos necessários à aplicação dos testes estatísticos na comparação de grupos, que consistiram na avaliação da homogeneidade da variância pela aplicação do teste de Levene e da curtose.

Para a comparação, por testes paramétricos, de valores médios de duas variáveis foi aplicado o teste t de Student para amostras independentes. Para a comparação de mais do que duas variáveis foi aplicado o teste estatístico *oneway* ANOVA.

Quando a distribuição normal não se verificava foram utilizados os testes não paramétricos correspondentes aos testes paramétricos referidos. A comparação dos dados de duas variáveis foi efectuada pelo teste de Mann-Whitney U e no caso de mais do que duas variáveis foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis. Sempre que se verificaram diferenças estatisticamente

significativas aplicou-se de seguida o teste bivariado de Mann-Whitney, controlado para o erro tipo I.

Os testes foram aplicados com um intervalo de confiança de 95% e um nível de significância de 5%.

2.3 Resultados

O número de amostras analisadas para cada tipo de bactéria, por produto testado, encontra-se apresentado na Tabela 10.

	Óleos essenciais	Delmopinol	Clorohexidina a 0,2%	Solução hidroalcoólica a 21,5%	Solução hidroalcoólica a 1,5%
<i>Streptococcus mutans</i>	n = 16	n = 15	n = 17	n = 13	n = 6
<i>Lactobacillus</i>	n = 21	n = 21	n = 23	n = 18	n = 6
Bactérias aeróbias	n = 9	n = 14	n = 21	n = 17	n = 5
Bactérias anaeróbias	n = 9	n = 19	n = 23	n = 14	n = 5

Tabela 10 – Número de espécimes (n) observados para cada tipo de bactérias, por produto testado.

A água destilada esterilizada, utilizada como controlo negativo para o procedimento laboratorial em todas a placas de Petri preparadas para este teste, não produziu, consistentemente, halos de inibição de crescimento bacteriano (Fig. 27).

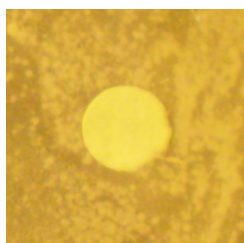


Figura 27 - Exemplo de não inibição de crescimento bacteriano pela água destilada esterilizada

2.3.1 Avaliação da eficácia dos produtos em teste na inibição de crescimento de colónias de *Streptococcus mutans*, de *Lactobacillus*, de bactérias aeróbias e de bactérias anaeróbias.

Os valores médios, em milímetros, dos halos de inibição de crescimento de colónias de *Streptococcus mutans*, de *Lactobacillus*, de bactérias aeróbias e anaeróbias relativamente aos produtos em estudo – clorohexidina a 0,2%, óleos essenciais e delmopinol, estão apresentados na Tabela 11, com o respectivo valor de p para a significância estatística.

	Óleos Essenciais	Delmopinol	Clorohexidina a 0,2%	p
<i>Streptococcus mutans</i>	14,5	15,0	14,8	0,953
<i>Lactobacillus</i>	21,1	21,0	22,9	0,559
Bactérias aeróbias	14,0	10,0	12,8	0,028*
Bactérias anaeróbias	14,5	11,2	13,8	0,053

Tabela 11 – Valores médios em mm de halos de inibição de crescimento de colónias e valor de p . *Estatisticamente significativo

Os resultados de inibição de crescimento de colónias de *Streptococcus mutans*, de *Lactobacillus* e de bactérias anaeróbias não são diferentes de forma estatisticamente significativa, para os vários produtos testados. Por outro lado a eficácia de inibição de crescimento de colónias de bactérias aeróbias é significativamente diferente entre os produtos testados.

As comparações individuais efectuadas entre os produtos testados relativamente à inibição do crescimento de bactérias aeróbias apresentam-se na Tabela 12.

Comparação de tratamentos experimentais	mm	p
Clorohexidina vs. Óleos essenciais	12,8 vs. 14,0	0,114
Clorohexidina vs. Delmopinol	12,8 vs. 10,0	0,044*
Óleos essenciais vs. Delmopinol	14,0 vs. 10,0	0,039*

Tabela 12 – Valor de p para diferenças estatísticas entre tratamentos

*Estatisticamente significativo

O valor médio dos halos de inibição produzidos pelo colutório à base de delmopinol foi significativamente inferior ao obtido pelo elixir com óleos essenciais e pela clorhexidina a 0,2%.

Não se observaram diferenças estatisticamente significativas entre o elixir com óleos essenciais e a clorhexidina.

2.3.2 Avaliação de inibição de crescimento bacteriano de *Streptococcus mutans*, de *Lactobacillus*, de bactérias aeróbias e de bactérias anaeróbias de uma solução hidro-alcoólica de concentração igual à existente no elixir com óleos essenciais e no colutório à base de delmopinol

Os valores, em mm, dos halos de inibição de crescimento de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus*, de bactérias aeróbias e anaeróbias, obtidos pelo elixir com óleos essenciais, o colutório à base de delmopinol e pelas soluções hidroalcoólicas com 21,5% e com 1,5%, podem ser observados nas Tabelas 13 e 14 respectivamente, juntamente com os respectivos valores de *p*.

	Concentração de álcool (21,5%)	Óleos Essenciais	vs. Elixir (<i>p</i>)
<i>Streptococcus mutans</i>	13,9	14,5	0,768
<i>Lactobacillus</i>	16,2	21,1	0,027*
Bactérias aeróbias	13,8	14,0	0,916
Bactérias anaeróbias	14,2	14,5	0,159

Tabela 13 – Valores médios, em mm, de halos de inibição para a solução hidro-alcoólica de concentração igual ao elixir e valor de *p*.

*Estatisticamente significativo

	Concentração de álcool (1,5%)	Delmopinol	vs. Colutório (p)
<i>Streptococcus mutans</i>	10,1	15,0	0,030*
<i>Lactobacillus</i>	11,5	21,0	0,000*
Bactérias aeróbias	7,20	10,0	0,687
Bactérias anaeróbias	4,80	11,2	0,063

Tabela 14 – Valores médios, em mm, de halos de inibição para a solução hidro-alcoólica de concentração igual ao colutório e valor de *p*.

*Estatisticamente significativo

Foram encontradas diferenças estatisticamente significativas nas medidas dos halos de inibição de crescimento bacteriano de *Lactobacillus* para o elixir com óleos essenciais quando comparado com as respectiva solução hidroalcoólica. O colutório à base de delmopinol foi diferente, de forma estatisticamente significativa, da respectiva solução hidroalcoólica a 1,5% na inibição de crescimento colónias de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus*.

Não foram encontradas diferenças significativas entre os valores dos halos de inibição de crescimento bacteriano para o elixir com óleos essenciais e o colutório à base de delmopinol e as respectivas soluções hidroalcoólicas, tanto para as bactérias aeróbias como anaeróbias.

2.4 Discussão

O estudo de elixires/colutórios antisépticos através de estudos laboratoriais não é necessariamente indicativo do seu valor clínico, especialmente se se utilizam nesses estudos bactérias na forma planctónica. As bactérias orais organizadas em biofilme reagem de forma muito diversa das bactérias isoladas aos antisépticos orais (Axelsson, 2002)

A eficácia de um elixir com óleos essenciais nas bactérias aeróbias da cavidade oral foi documentada por Balbuena em 1998, tendo encontrado uma redução estatisticamente significativa das contagens de colónias de bactérias aeróbias e anaeróbias pelo período de até 4 horas após a utilização do elixir.

Na comparação de eficácia do elixir com óleos essenciais com o colutório à base de delmopinol e com o controlo positivo de clorhexidina a 0,2% verificou-se não existirem diferenças estatisticamente significativas entre os produtos na inibição de crescimento de colónias de *Streptococcus mutans* de *Lactobacillus*. Este resultado contraria estudos que indicam que a eficácia dos óleos essenciais na redução da contagem total de bactérias da placa bacteriana supra gengival é menor do que a clorhexidina (Sreenivasan e Gittins, 2004).

A comparação do elixir e do colutório com a clorhexidina mostrou não existirem diferenças na capacidade de inibição de formação de colónias e de crescimento bacteriano, quer de bactérias isoladas quer de placa bacteriana total, isto apesar de a clorhexidina a 0,2% continuar a ser o antiséptico de referência no controlo das doenças orais (Van Strydonck *et al.*, 2005).

Quando comparado com respectiva solução hidroalcoólica, o elixir com óleos essenciais não apresentou diferenças estatisticamente significativas na inibição de crescimento de *Streptococcus mutans*, de bactérias aeróbias e de bactérias anaeróbias. Quando avaliado para o efeito inibidor do crescimento de colónias de *Lactobacillus*, o elixir com óleos essenciais, relevou ser estatisticamente superior ao seu conteúdo em álcool. Estes resultados contradizem, parcialmente, os ensaios clínicos que demonstraram que o elixir com óleos essenciais possui uma eficácia muito superior do que a sua composição em álcool na redução de placa bacteriana e gengivite (Santos, 2003).

O colutório à base de delmopinol, quando comparado com a solução hidroalcoólica com uma concentração de etanol igual à sua composição comercial, apresentou consistentemente melhores resultados na inibição de crescimento de bactérias aeróbias e anaeróbias, e sendo estatisticamente significativos, para a inibição de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus*. Estes resultados estão de acordo com o descrito na literatura, que refere que o delmopinol a 0.2% diminui de forma significativa a vitalidade bacteriana, quer na forma de biofilme quer na forma planctónica, possuindo também

capacidade bactericida no período inicial da formação do biofilme oral (Burgemeister *et al.*, 2001).

2.5 Conclusões

Dos resultados obtidos no Estudo Laboratorial II podemos retirar as seguintes conclusões:

- A capacidade de inibição do crescimento bacteriano não diferiu de forma estatisticamente significativa entre os vários produtos testados para o *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* e bactérias anaeróbias;
- Observaram-se diferenças estatisticamente significativas entre os produtos, apenas na inibição do crescimento das bactérias aeróbias. Neste caso, verificou-se que o colutório à base de delmopinol apresentou uma capacidade inibitória significativamente inferior aos óleos essenciais e à clorohexidina. Não se observaram diferenças estatisticamente significativas entre os óleos essenciais e clorohexidina;
- Na comparação entre a capacidade de inibição do crescimento bacteriano do elixir contendo óleos essenciais e uma solução hidroalcoólica com a mesma concentração em etanol verificou-se não existirem diferenças significativas relativamente a todas as bactérias com excepção dos *Lactobacillus*. Neste caso, a capacidade inibitória do elixir foi significativamente superior à da solução hidroalcoólica.
- No caso do colutório à base de delmopinol verificou-se que este apresentou uma capacidade inibitória significativamente superior à da respectiva solução hidroalcoólica, para os *Streptococcus mutans* e para os *Lactobacillus*, não existindo diferenças para as bactérias aeróbias e anaeróbias.

*Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas
Bactérias da Placa Bacteriana*

3. Ensaio Clínico I

O Ensaio Clínico I, desenvolvido no âmbito deste trabalho de Doutoramento, consistiu na avaliação do efeito do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol, após bochecho diário por um período de duas semanas, através de parâmetros clínicos e laboratoriais.

3.1 Objectivos

Os objectivos específicos do Ensaio Clínico I consistiram na:

- a) Avaliação e comparação da eficácia do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol avaliado através de parâmetros laboratoriais de inibição de formação de colónias de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus*, bactérias aeróbias e anaeróbias, traduzidas em unidades formadoras de colónias (CFU)
- b) Avaliação e comparação da eficácia do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol avaliado através de parâmetros clínicos de acumulação de placa bacteriana e de gengivite

A partir destes objectivos foram formuladas as seguintes hipóteses experimentais:

Para a componente laboratorial:

3.1.1 H_0 - O elixir com óleos essenciais não difere significativamente do colutório à base de delmopinol relativamente à inibição de crescimento de colónias de *Streptococcus mutans* obtidas de amostras supragengivais;

H_1 - O elixir com óleos essenciais difere significativamente do colutório à base de delmopinol relativamente à inibição de crescimento de colónias de *Streptococcus mutans* obtidas de amostras supragengivais;

3.1.2 H_0 - O elixir com óleos essenciais não difere significativamente do colutório à base de delmopinol relativamente à inibição de crescimento de colónias de *Streptococcus mutans* obtidas de amostras subgengivais;

H_1 - O elixir com óleos essenciais difere significativamente do colutório à base de delmopinol relativamente à inibição de crescimento de colónias de *Streptococcus mutans* obtidas de amostras subgengivais;

3.1.3 H_0 - O elixir com óleos essenciais não difere significativamente do colutório à base de delmopinol relativamente à inibição de crescimento de colónias de *Lactobacillus* obtidas de amostras supragengivais;

H_1 - O elixir com óleos essenciais difere significativamente do colutório à base de delmopinol relativamente à inibição de crescimento de colónias de *Lactobacillus* obtidas de amostras supragengivais;

3.1.4 H_0 - O elixir com óleos essenciais não difere significativamente do colutório à base de delmopinol relativamente à inibição de crescimento de colónias de *Lactobacillus* obtidas de amostras subgengivais;

H_1 - O elixir com óleos essenciais difere significativamente do colutório à base de delmopinol relativamente à inibição de crescimento de colónias de *Lactobacillus* obtidas de amostras subgengivais;

3.1.5 H_0 - O elixir com óleos essenciais não difere significativamente do colutório à base de delmopinol relativamente à inibição de crescimento de colónias de bactérias aeróbias obtidas de amostras supragengivais;

H_1 - O elixir com óleos essenciais difere significativamente do colutório à base de delmopinol relativamente à inibição de crescimento de colónias de bactérias aeróbias obtidas de amostras supragengivais;

3.1.6 H_0 - O elixir com óleos essenciais não difere significativamente do colutório à base de delmopinol relativamente à inibição de crescimento de colónias de bactérias aeróbias obtidas de amostras subgengivais;

H_1 - O elixir com óleos essenciais difere significativamente do colutório à base de delmopinol relativamente à inibição de crescimento de colónias de bactérias aeróbias obtidas de amostras subgengivais;

3.1.7 H_0 - O elixir com óleos essenciais não difere significativamente do colutório à base de delmopinol relativamente à inibição de crescimento de colónias de bactérias anaeróbias obtidas de amostras supragengivais.

H_1 - O elixir com óleos essenciais difere significativamente do colutório à base de delmopinol relativamente à inibição de crescimento de colónias de bactérias anaeróbias obtidas de amostras supragengivais.

3.1.8 H_0 - O elixir com óleos essenciais não difere significativamente do colutório à base de delmopinol relativamente à inibição de crescimento de colónias de bactérias anaeróbias obtidas de amostras subgengivais.

H_1 - O elixir com óleos essenciais difere significativamente do colutório à base de delmopinol relativamente à inibição de crescimento de colónias de bactérias anaeróbias obtidas de amostras subgengivais.

Para a componente clínica:

3.1.9 H_0 – O grupo experimental com o elixir com óleos essenciais não difere significativamente do grupo experimental com o colutório à base de delmopinol, relativamente aos resultados obtidos na avaliação da saúde gengival, determinados pelo índice gengival de Lõe e Silness (Wilkins, 2005);

H_1 - O grupo experimental com o elixir com óleos essenciais difere significativamente do grupo experimental com o colutório à base de

delmopinol, relativamente aos resultados obtidos na avaliação da saúde gengival, determinados pelo índice gengival de Løe e Silness (Wilkins, 2005);

3.1.10 H_0 – O grupo experimental com o elixir com óleos essenciais não difere significativamente do grupo de controlo, relativamente aos resultados obtidos na avaliação da saúde gengival, determinados pelo índice gengival de Løe e Silness (Wilkins, 2005);

H_1 - O grupo experimental com o elixir com óleos essenciais difere significativamente do grupo de controlo, relativamente aos resultados obtidos na avaliação da saúde gengival, determinados pelo índice gengival de Løe e Silness (Wilkins, 2005);

3.1.11 H_0 – O grupo experimental com o colutório à base de delmopinol não difere significativamente do grupo de controlo, relativamente aos resultados obtidos na avaliação da saúde gengival, determinados pelo índice gengival de Løe e Silness (Wilkins, 2005);

H_1 - O grupo experimental com o colutório à base de delmopinol difere significativamente do grupo de controlo, relativamente aos resultados obtidos na avaliação da saúde gengival, determinados pelo índice gengival de Løe e Silness (Wilkins, 2005);

3.1.12 H_0 - O grupo experimental com o elixir com óleos essenciais não difere significativamente do grupo experimental com o colutório à base de delmopinol, relativamente aos resultados determinados na avaliação da acumulação de placa bacteriana pelo índice de placa bacteriana de Quigley e Hein (1962), modificado por Turesky *et al.* (1970) (Wilkins, 2005);

H_1 - O grupo experimental com o elixir com óleos essenciais difere significativamente do grupo experimental com o colutório à base de

delmopinol, relativamente aos resultados determinados na avaliação da acumulação de placa bacteriana pelo índice de placa bacteriana de Quigley e Hein (1962), modificado por Turesky *et al.* (1970) (Wilkins, 2005);

3.1.13 H_0 - O grupo experimental com o elixir com óleos essenciais não difere significativamente do grupo de controlo, relativamente aos resultados determinados na avaliação da acumulação de placa bacteriana pelo índice de placa bacteriana de Quigley e Hein (1962), modificado por Turesky *et al.* (1970) (Wilkins, 2005);

H_1 - O grupo experimental com o elixir com óleos essenciais difere significativamente do grupo de controlo, relativamente aos resultados determinados na avaliação da acumulação de placa bacteriana pelo índice de placa bacteriana de Quigley e Hein (1962), modificado por Turesky *et al.* (1970) (Wilkins, 2005);

3.1.14 H_0 - O grupo experimental com o elixir com colutório à base de delmopinol não difere significativamente do grupo de controlo, relativamente aos resultados determinados na avaliação da acumulação de placa bacteriana pelo índice de placa bacteriana de Quigley e Hein (1962), modificado por Turesky *et al.* (1970) (Wilkins, 2005);

H_1 - O grupo experimental com elixir com colutório à base de delmopinol difere significativamente do grupo de controlo relativamente, aos resultados determinados na avaliação da acumulação de placa bacteriana pelo índice de placa bacteriana de Quigley e Hein (1962), modificado por Turesky *et al.* (1970) (Wilkins, 2005);

3.2 Materiais e Métodos

Para atingir os objectivos específicos deste ensaio clínico, foi elaborado um estudo com duas componentes, uma laboratorial e outra clínica.

A componente laboratorial permitiu a comparação e a avaliação *in vitro* da eficácia do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol na inibição de formação de colónias de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus*, bactérias aeróbias e anaeróbias, traduzidas em unidades formadoras de colónias (CFU). A comparação e avaliação ocorreram pela contagem das CFU obtidas na primeira recolha de amostra de placa bacteriana, comparada com a contagem de CFU obtida após a utilização dos produtos, resultante da recolha de uma segunda amostra de placa bacteriana dos participantes.

A componente clínica permitiu a comparação e a avaliação da eficácia do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol nos parâmetros clínicos de acumulação de placa bacteriana e de gengivite, avaliados, respectivamente, pelo índice de placa bacteriana de Quigley e Hein (1962), modificado por Turesky *et al.* (1970) e pelo índice gengival de Løe & Silness (1963).

A recolha dos dados foi efectuada em folha de registo demográfico e clínico. De forma a minimizar a introdução de erros de observação e registo, capazes de distorcer ou mesmo invalidar os resultados, todas as observações e registos das variáveis clínicas foram feitos por um único observador (investigador).

3.2.1 Selecção de participantes no ensaio clínico

Os participantes do presente ensaio clínico foram seleccionados de entre os pacientes da clínica de higiene oral da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa. O número de participantes foi de 30 elementos para cada grupo de estudo, num total de 90 indivíduos. Este número foi obtido pelo cálculo do tamanho de uma amostra necessária, a um nível de significância de 5%, para proporcionar ao estudo um poder estatístico de 90 % e que permitisse detectar uma diferença de 0,32 unidades do desvio-padrão nas variáveis de estudo entre os grupos experimentais.

A abordagem dos pacientes iniciou-se pela apresentação do projecto do ensaio clínico e dos objectivos. Se o paciente se encontrava receptivo era-lhe apresentado o consentimento informado (Apêndice 1) e reforçada a informação que de não teria prejuízo algum se não aceitasse participar ou se quisesse desistir. Uma cópia do consentimento informado foi entregue ao participante, ficando o investigador com outra cópia, ambas assinadas pelo paciente e pelo investigador. Foram aceites no estudo todos os participantes que preencheram os critérios de inclusão e exclusão, apresentados na Tabela 15.

Critérios de inclusão
<ul style="list-style-type: none"> • Ser paciente da clínica de Higiene Oral da Faculdade de Medicina Dentária • Assinar o consentimento informado • Possuir pelo menos dois quadrantes com 6 dentes em cada • Possuir gengivite ligeira ou moderada (IG <3) • Possuir acumulação de placa bacteriana nas superfícies dentárias
Critérios de exclusão
<ul style="list-style-type: none"> • Utilizar elixir ou colutório como auxiliar de Higiene oral • Idade inferior a 15 anos • Ter realizado uma consulta de Higiene Oral há menos de 6 meses • Ter realizado terapia com antibiótico nos três meses anteriores ao estudo • Possuir cáries extensas, com fractura de peças dentárias

Tabela 15 - Critérios de exclusão e inclusão do ensaio clínico I

Sempre que um participante foi integrado no ensaio clínico era-lhe atribuído um número de identificação de participante que passaria a ser a sua identificação.

3.2.2 Distribuição de participantes pelos grupos experimentais

A atribuição do grupo experimental a cada participante foi efectuada de forma aleatória. Após a elaboração de uma lista de números de 1 a 90, consecutivos, que correspondiam ao número total de participantes. Foram gerados aleatoriamente em computador números de 1 a 3 que correspondiam aos grupos experimentais. Esses números foram emparelhados sequencialmente com os números dos participantes. Ao ser atingido o número de 30 elementos por cada grupo experimental, ficava criado o conjunto de indivíduos que constituíam esse grupo.

Este desenho implicou a existência de três grupos e de dois períodos de recolha de dados. Os grupos foram organizados da seguinte forma:

- O Grupo 1, denominado de grupo de controlo, consistiu num grupo de pacientes que receberam uma consulta de higiene oral onde se procedeu à recolha das variáveis de interesse para o estudo. Efectuaram-se ensinamentos de higiene oral individual, nomeadamente escovagem e o método de higiene interproximal mais adequado às suas necessidades, destarização e polimento de superfícies dentárias. Este grupo não recebeu nenhum elixir ou colutório para utilização e foi-lhe referido que deveria somente executar a sua higiene oral regularmente, não utilizando outro meio além da escova, dentífrico fluoretado e higiene interproximal.

- O Grupo experimental 2, denominado grupo experimental com elixir com óleos essenciais, recebeu, além da consulta de higiene oral, em tudo idêntica ao Grupo 1, instruções para utilizar 20 ml do elixir *Listerine Cool Mint* duas vezes ao dia durante 30 segundos de cada vez, de acordo com as indicações do fabricante, tendo recebido o elixir necessário, para as duas semanas de duração do período experimental.

- O Grupo experimental 3, denominado grupo experimental com colutório à base de delmopinol, recebeu também uma consulta de higiene oral igual ao Grupo 1 e 2 e instruções para utilizar 10 ml do colutório *Decapinol* duas vezes ao dia, durante um minuto de cada vez, de acordo com as instruções do fabricante. Foi distribuído o colutório necessário para a realização do bochecho durante duas semanas.

Os períodos de recolha de dados corresponderam a duas consultas de Higiene Oral espaçadas no tempo por um intervalo de 15 dias, realizadas pelo mesmo observador (investigador) ou sob supervisão do investigador. Todos os participantes voltaram após o período experimental de duas semanas o que permitiu completar a recolha dos dados.

A primeira observação do paciente, denominada de consulta de *baseline*, decorreu em ambiente clínico. Permitiu a obtenção dos dados demográficos, a análise dos critérios de inclusão e exclusão e a observação e recolha das variáveis necessárias para as componentes clínica e laboratorial deste estudo. Nessa consulta o paciente foi informado que seria necessário voltar após duas semanas para nova recolha de informações.

A segunda consulta, livre de encargos para o participante, permitiu observar e obter as variáveis de estudo necessárias para comparação com os dados de *baseline*. Os participantes receberam material de higiene oral, escova de dentes e um dentífrico fluoretado, como agradecimento pela colaboração no estudo.

Os dados da consulta de *baseline* destinaram-se a estabelecer a situação de início do estudo relativamente às variáveis clínicas e laboratoriais de interesse. Na fase de avaliação, que consistiu na seguida consulta de higiene oral realizada 2 semanas após a primeira, repetiu-se a recolha de informação sobre as variáveis de estudo, o que permitiu a avaliação das hipóteses experimentais.

A observação dos participantes no Ensaio Clínico I decorreu na clínica de higiene oral da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa (Fig. 28). O protocolo de estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para a Saúde da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa.



Figura 28 – Vista geral da clínica de higiene oral da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa

3.2.3 Procedimento laboratorial

Para avaliar e comparar a eficácia do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol nos parâmetros laboratoriais de inibição de formação de colónias de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus*, bactérias aeróbias e anaeróbias, foi necessário obter amostras de placa bacteriana dos participantes do estudo.

O procedimento de recolha de amostras supra e subgengivais, sua dispersão, diluição, isolamento e identificação de espécimes foi efectuado da forma descrita no Estudo Laboratorial I e de acordo com o esquema da Figura 6. O transporte de amostras foi realizado para o laboratório de microbiologia do Instituto Piaget onde foram processadas.

Foram colhidas na clínica um total 180 amostras de placa bacteriana por cada período de recolha de dados, 60 amostras (uma amostra supragengival e outra subgengival) para cada grupo experimental que corresponderam a cada um dos 30 participantes que dele faziam parte.

Dessas amostras resultaram um total de 180 placas de Petri contendo *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* em cada período de recolha de dados, duas para cada participante, nas quais se efectuaram as contagens iniciais e finais das CFU destas espécies bacterianas.

Para as bactérias aeróbias e anaeróbias foram avaliadas um total de 43 amostras de bactérias aeróbias supra e subgengivais e 44 amostras de bactérias anaeróbias supra e subgengivais, distribuídas da seguinte forma para cada grupo:

- Grupo de controlo: 14 amostras aeróbias e 15 amostras anaeróbias,
- Grupo de óleos essenciais: 14 amostras para cada tipo de bactérias,
- Grupo de delmopinol: 15 amostras para cada tipo de bactérias.

Após o isolamento de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus*, bactérias aeróbias e anaeróbias procedeu-se ao seu cultivo utilizando as técnicas descritas anteriormente. A marcação das placas de Petri foi efectuada de modo a constar o número de identificação do participante, a data da recolha da amostra e o tipo de bactéria presente no meio. De seguida foram contadas e registadas as unidades formadoras de colónias.

3.2.3.1 Método de contagem de unidades formadoras de colónias

As unidades formadoras de colónias de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus*, bactérias aeróbias e anaeróbias foram contadas, seguindo os procedimentos da norma ISO 7218:2007(E), utilizando um contador de colónias (Suntex – Colony counter 570, Taiwan) (Figura 29). A partir das contagens, foram obtidos os valores de unidades formadoras de colónias por mililitro (log CFU/ml), que foram logaritmizados para análise dos dados.



Figura 29 – Contador de Unidade de Formadoras de Colónias (Suntex – Colony counter 570, Taiwan).

3.2.4 Procedimento clínico

Para a observação clínica o participante encontrava-se deitado numa cadeira da equipe dentária. Foi utilizada luz artificial do candeeiro da equipe e aspiração de saliva.

Os instrumentos de observação consistiram num espelho intraoral e uma sonda periodontal para a determinação do índice gengival de Løe & Silness.

A placa bacteriana foi corada pela utilização de uma solução de eritrosina a 6% aplicada sobre as superfícies dentárias com o uso de um cotonete, após secagem do dente e visualizada pela utilização do espelho intraoral e por visão directa. Após este procedimento foi registado o índice de placa bacteriana de Quigley e Hein, modificado por Turesky.

Os dados clínicos foram registados em folhas de observação clínica criadas para o efeito e apresentadas no Apêndice 2.

3.2.5 Descrição das variáveis

As variáveis de estudo foram divididas, de acordo com as suas características, em variáveis de identificação demográfica, variável independente e variáveis dependentes.

3.2.5.1 Variáveis de identificação demográfica

As variáveis de identificação demográfica permitiram caracterizar a amostra no que respeita à idade e sexo. A variável “sexo” encontra-se definida numa escala nominal dicotómica do tipo masculino/feminino. A variável “idade” encontra-se organizada numa escala de intervalo, sendo registada com a idade do participante a 1 de Janeiro de 2008. A formação de grupos etários dos 15 a 24 anos, 25 a 44 anos, 45 a 64 anos e mais do que 65 anos de idade, permitiu a distribuição dos participantes por intervalos de idades.

Na Tabela 16 apresentam-se as variáveis de identificação e respectiva escala de mensuração.

Variáveis de identificação	Escala
Género	Nominal dicotómica (Masculino /Feminino)
Idade	Intervalo (15-24, 25-44; 45-64, ≥65)

Tabela 16 – Variáveis de identificação e respectiva escala

3.2.5.2 Variável independente

Uma variável independente consiste num factor ou condição experimental que é manipulada pelo investigador e vai afectar a variável ou variáveis dependentes, sendo estas aquelas que o investigador pretende

avaliar. As variáveis dependentes consistem nas características mensuráveis do efeito obtido pela aplicação das variáveis independentes.

Na Tabela 17 apresenta-se a variável independente e respectiva escala de mensuração, que nos identifica o grupo tratamento a que o participante pertencia.

Variável independente	Escala
Grupo experimental	Nominal de 1 a 3 1 – Grupo de controlo 2 – Grupo com elixir de óleos essenciais 3 – Grupo com colutório à base de delmopinol

Tabela 17 – Variável independente e respectiva escala

3.2.5.3 Variáveis dependentes

A selecção das variáveis dependentes deve ser feita de modo a que correspondam a efeitos reais, mensuráveis ou quantificáveis, claramente causados pelas variáveis independentes. Somente desta forma diferenças observadas entre os grupos, relativamente às variáveis dependentes, podem ser atribuídas às variáveis independentes.

Neste ensaio clínico e uma vez que existem duas componentes, clínica e laboratorial, foram definidas dois grupos de variáveis dependentes, um para cada componente.

A quantificação dos parâmetros laboratoriais da capacidade de inibição de formação de colónias de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus*, bactérias aeróbias e anaeróbias foi conseguida pela contagem das unidades formadoras de colónias (CFU) em placas de Petri, na consulta de *baseline* e na consulta dos 15 dias.

Na Tabela 18 apresentam-se as variáveis dependentes e respectiva escala de mensuração.

Variáveis dependentes	Escala de mensuração
Contagem de CFU de <i>Streptococcus mutans</i> supra e subgengivais	Escala intervalar: Transformação logaritmica das contagens bacterianas para análise dos dados
Contagem de CFU de <i>Lactobacillus</i> supra e subgengivais	
Contagem de CFU de bactérias aeróbias sub e supragengivais	
Contagem de CFU de bactérias anaeróbias sub e supragengivais	

Tabela 18 – Variáveis dependentes da componente laboratorial e respectiva escala

A quantificação dos parâmetros clínicos de gengivite e de acumulação de placa bacteriana foi conseguida pela aplicação de índices clínicos de avaliação destas características. O índice gengival de Løe & Silness (1963) e o índice de placa bacteriana de Quigley e Hein (1962), modificado por Turesky *et al.* (1970) são reconhecidos como capazes de proceder correctamente a esta identificação sendo largamente utilizados em ensaios clínicos (Fischman, 1986; Wilkins, 2005).

Na Tabela 19 apresentam-se as variáveis dependentes da componente clínica e respectiva escala de mensuração, que permitiram a caracterização das variáveis observadas

Variáveis dependentes	Escala
Índice gengival de Løe & Silness em baseline e 2 semanas após primeira consulta	Ordinal de 0 a 3 0 – Gengiva saudável 1 – Pequena alteração de cor, sem hemorragia à sondagem. 2 – Gengiva vermelha e edemaciada, com hemorragia à sondagem 3 – Gengiva vermelha, edemaciada e ulcerada, hemorragia espontânea.
Índice de placa bacteriana de Quigley e Hein, modificado por Turesky <i>et al.</i> em baseline e 2 semanas após primeira consulta	Ordinal de 0 a 5 0 -Sem placa bacteriana 1 -Placa bacteriana pontual na zona cervical 2 -Banda fina contínua de placa bacteriana, até 1mm, na margem cervical 3 -Banda maior do que 1 mm, mas menor do que 1/3 da coroa 4 -Banda maior do que 1/3 da coroa mas menos do que 2/3 da coroa 5 -Placa bacteriana que cobre 2/3 ou mais da coroa do dente

Tabela 19 – Variáveis dependentes da componente clínica e respectiva escala

3.2.6 Metodologia estatística na análise dos dados

A componente laboratorial deste ensaio clínico implica a análise da variação dos valores médios de unidades formadoras de colónias bacterianas entre dois pontos no tempo (consultas) para cada grupo experimental. Esta análise foi efectuada recorrendo ao teste t emparelhado, com um nível de significância de 5%.

Uma vez que também foi feita a comparação entre grupos, os dados microbiológicos foram avaliados para a homogeneidade da variância pela aplicação do teste de Levene e a curtose, pressupostos necessários para a realização do teste estatístico que permitiu a análise dos dados.

As distribuições que resultaram em dados que cumpriam estes pré-requisitos foram analisadas utilizando metodologias paramétricas, procurando conhecer diferenças entre as médias através da análise de variância ANOVA, tendo o tipo de tratamento como o factor (variável independente) e cada uma das variáveis microbiológicas como a variável dependente. Quando se obtinha significância estatística, a análise *post hoc*, da diferença entre os grupos específicos foi realizada utilizando o teste de Tukey.

As amostras que não satisfizeram os pré-requisitos foram analisadas por métodos não-paramétricos, nomeadamente o teste de Kruskal-Wallis, que permitiu avaliar a diferença entre grupos, e o teste bivariado de Mann-Whitney, como teste *post hoc* para estudo das diferenças entre dois grupos específicos. O nível de significância estabelecido nestes testes foi, também, de 5%.

Os dados clínicos foram analisados utilizando técnicas estatísticas descritivas. Foram construídas tabelas de apuramento geral dos resultados, com os respectivos cálculos de frequências absolutas (contagens do número de participantes para cada categoria da variável) e relativas (percentagens do total de participantes) para todas as variáveis em estudo.

Para as variáveis de escala ordinal foram adicionalmente construídas tabelas com algumas estatísticas descritivas, entre elas as medidas de tendência central: média ou o ponto médio e a mediana, que divide a distribuição em duas partes iguais, isto é, o valor abaixo do qual se encontram 50% das observações, mais adequada na presença de valores *outliers*. As medidas de dispersão também foram estudadas, particularmente o desvio padrão que representa o desvio médio das observações relativamente à média.

Os grupos experimentais foram comparados relativamente à idade e valores de início de estudo (*baseline*) utilizando a análise de variância com o tratamento como factor único (*oneway* ANOVA) e novamente após o período experimental. O ponto temporal de interesse para o tratamento foi de duas semanas após o início do uso do elixir/colutório. O nível de significância utilizado foi de 5%.

As comparações entre os tratamentos foram realizadas utilizando uma análise de covariância (*oneway analysis of covariance*), com o tipo de tratamento como factor e o valor de *baseline* das variáveis dependentes como covariante, a um nível de significância de 5%. A interação tratamento vs. *baseline* foi analisada. A relação entre a covariante e a variável dependente foi examinada para a concordância com os pressupostos necessários à realização do teste ANCOVA, nomeadamente, a igualdade de *slopes* (sendo que o valor de *p* para a igualdade deve ser superior a 0,05 de modo a permitir a execução do teste estatístico), além da verificação dos pressupostos de normalidade, linearidade e homogeneidade das variâncias. O teste ANCOVA está indicado como o mais adequado para análise da eficácia de remoção de placa bacteriana em ensaios clínicos (Heynderickx e Engel, 2005).

As comparações entre os valores iniciais e finais dos índices observados foram realizadas pela aplicação do teste estatístico t-teste emparelhado com um nível de significância de 5%.

As seguintes comparações foram realizadas para os valores médios do índice gengival de Løe & Silness e índice de placa bacteriana de Quigley e Hein, modificado por Turesky *et al.*: grupo de óleos essenciais vs. grupo de controlo; grupo de delmopinol vs. grupo de controlo; grupo de óleos essenciais vs. grupo de delmopinol.

3.3 Resultados

Noventa indivíduos aceitaram participar neste estudo, divididos pelos três grupos experimentais, 30 no grupo de controlo, 30 no grupo experimental com elixir contendo óleos essenciais e outros 30 no grupo experimental com o colutório à base de delmopinol. De um modo global, no que respeita à amostra no seu todo, verifica-se que esta é relativamente equilibrada em termos de género, sendo que 51,1% do total de 90 indivíduos são do sexo feminino.

A distribuição por grupo etário dos 15 aos 24 anos, 25 aos 44 anos, 45 aos 64 anos e mais de 65 anos de idade pode ser observada na Figura 30.

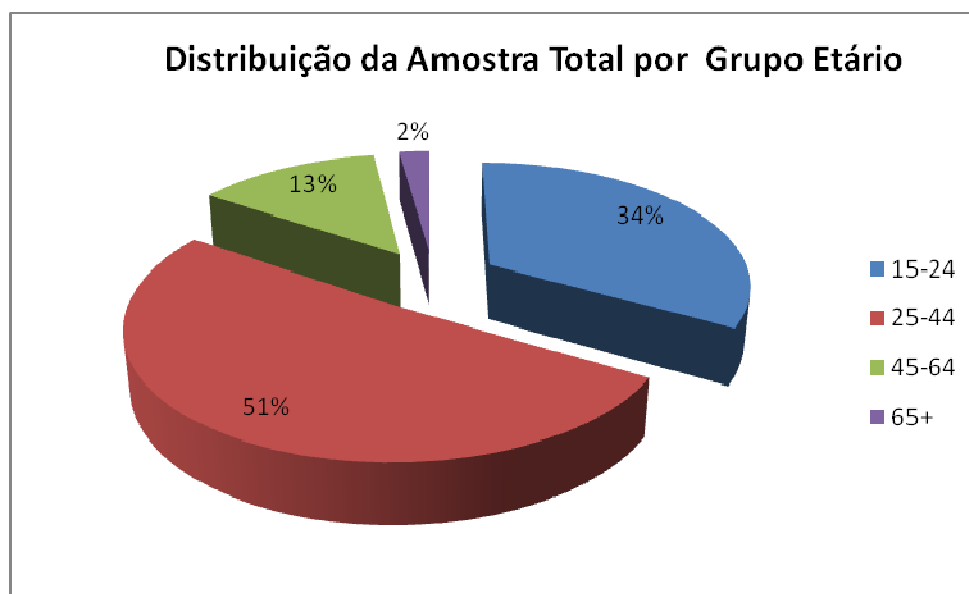


Figura 30: Distribuição, em percentagem, da amostra total organizada por grupo etário

A maioria dos participantes (51%) situava-se no grupo etário dos 25 aos 44 anos de idade, seguido do grupo dos 15 aos 24 anos de idade (34%), do grupo dos 45 aos 64 anos de idade (13%) e por fim o grupo com idades superiores a 65 anos com 2% dos participantes.

O valor médio do índice CPOD foi de 6,9 dentes cariados, perdidos e obturados, o que permite a classificação da amostra como um grupo de alto valor do índice. Deve-se salientar que 58,9% dos indivíduos não possuíam história de cárie e que 45,6% nunca perderam um dente. O valor mais elevado de CPOD foi de 19.

Os resultados obtidos neste ensaio clínico são apresentados seguindo uma ordem relacionada com as componentes do estudo. Assim inicia-se a apresentação dos resultados da componente laboratorial, seguida da componente clínica.

3.3.1 Resultados da componente laboratorial

O elixir com óleos essenciais e o colutório à base de delmopinol possuem a capacidade de actuar sobre a placa bacteriana supra e subgengival, pelo que se procedeu ao estudo estatístico das diferenças entre a colonização de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus*, bactérias aeróbias e anaeróbias nestes nichos da cavidade oral.

3.3.1.1 Avaliação da eficácia do elixir/colutório na inibição de formação de colónias de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus*, em CFU

A avaliação da eficácia do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol foi obtida pela análise da diminuição da quantidade de unidades formadoras de colónias (CFU).

Procedeu-se à comparação das contagens de CFU iniciais, resultantes das primeiras amostras, com as contagens de CFU das segundas amostras, após o período experimental de duas semanas. Esta análise foi efectuada para os *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* obtidos de amostras supragengivais e subgengivais.

Os valores médios, logaritmizados, de unidades formadoras de colónias de *Streptococcus mutans* apresentam-se na Tabela 20 e de unidades formadoras de colónias de *Lactobacillus* na Tabela 21, juntamente com a percentagem de redução e os valores de *p* para a significância estatística de diferenças entre o valor inicial e final.

<i>Streptococcus mutans</i>	Supragengival (CFU)				Subgengival (CFU)			
	Início (média)	Final (média)	% de redução	Início vs. Final (p)	Início (média)	Final (média)	% de redução	Início vs. Final (p)
Grupo de Controlo	1,76	1,53	13,1%	0,229	1,82	1,36	25,3%	<0,001*
Grupo de Óleos Essenciais	1,56	0,89	42,9%	0,007*	1,26	0,69	45,2%	0,006*
Grupo de Delmopinol	1,88	0,98	47,9%	0,001*	1,38	0,63	54,3%	0,001*

Tabela 20 – Contagem média de CFU de *Streptococcus mutans*, percentagem de redução e valor de *p* para a diferença entre contagens. * Estatisticamente significativo

<i>Lactobacillus</i>	Supragengival (CFU)				Subgengival (CFU)			
	Início (média)	Final (média)	% de redução	Início vs. Final (p)	Início (média)	Final (média)	% de redução	Início vs. Final (p)
Grupo de Controlo	0,49	0,26	46,9%	0,277	0,65	0,21	67,7%	0,027*
Grupo de Óleos Essenciais	0,48	0,13	72,9%	0,034*	0,30	0,15	50%	0,141
Grupo de Delmopinol	0,89	0,37	58,4%	0,017*	0,58	0,44	24,1%	0,428

Tabela 21 – Contagem média de CFU de *Lactobacillus*, percentagem de redução e valor de *p* para a diferença entre contagens. * Estatisticamente significativo

Da análise estatística, verificaram-se diferenças estatisticamente significativas, entre a contagem inicial e final de CFU nas amostras subgengivais de *Streptococcus mutans* para todos os grupos experimentais, e para os grupos do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol para as amostras supragengivais de *Streptococcus mutans*.

As diferenças entre as contagens iniciais e finais de CFU para os *Lactobacillus* foram estatisticamente significativas nas contagens supragengivais dos grupos experimentais com o elixir com óleos essenciais e o colutório à base de delmopinol. A diferença entre as CFU subgengivais de *Lactobacillus* somente apresentou diferenças estatisticamente significativas para o grupo de controlo.

3.3.1.1.1 Comparação dos grupos experimentais

A comparação entre os grupos experimentais estudados permitiu averiguar se algum grupo se mostrava mais vantajoso para a diminuição da formação de colónias bacterianas quando comparado com os outros.

A análise estatística elaborada permitiu verificar que nos dados iniciais de unidades formadoras de colónias não existem diferenças estatisticamente significativas entre os três grupos, apresentadas na Tabela 22, o que indica que se partiu para o estudo de uma base semelhante, entre os grupos experimentais.

Valores iniciais	Grupo de controlo	Grupo de óleos essenciais	Grupo de delmopinol	Valor de p
<i>Streptococcus mutans</i> supragengival	1,76	1,56	1,88	0,520
<i>Streptococcus mutans</i> subgengival	1,82	1,26	1,38	0,628
<i>Lactobacillus</i> supragengival	0,49	0,48	0,89	0,170
<i>Lactobacillus</i> subgengival	0,65	0,30	0,58	0,277

Tabela 22 – Comparação entre grupos de estudo para unidades formadoras de colónias, iniciais, de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus*, valores em logaritmos, e valor de p para diferença estatística.

Entre os grupos experimentais e após as duas semanas de estudo, podemos observar na Tabela 23, os dados de contagens de CFU obtidas.

Valores finais	Grupo de controlo	Grupo de óleos essenciais	Grupo de delmopinol	Valor de p
<i>Streptococcus mutans</i> supragengival	1,53	0,89	0,98	0,050
<i>Streptococcus mutans</i> subgengival	1,36	0,69	0,63	0,005*
<i>Lactobacillus</i> supragengival	0,36	0,13	0,37	0,264
<i>Lactobacillus</i> subgengival	0,21	0,15	0,44	0,130

Tabela 23 – Comparação entre grupos de estudo para unidades formadoras de colónias de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* finais, valores em logaritmos, e valor de p para diferença estatística.

*Estatisticamente significativo

De onde se observa que não ocorreram diferenças estatisticamente significativas para as contagens de *Streptococcus mutans* supragengival ($p=0,050$ – o teste de Tukey mostrou não haver diferenças estatisticamente significativas apesar do valor de ANOVA ser *borderline*) e *Lactobacillus* supragengival ($p=0,264$) e subgengival ($p=0,130$)

Para as contagens de *Streptococcus mutans* subgengival, cujas diferenças entre os grupos experimentais são estatisticamente significativas, verificou-se que somente o grupo de controlo foi estatisticamente diferente do grupo experimental com o elixir com óleos essenciais ($p=0,020$) e do grupo experimental com o colutório à base de delmopinol ($p=0,010$). O grupo experimental com o elixir com óleos essenciais não apresentou diferenças do grupo experimental do colutório à base de delmopinol para o *Streptococcus mutans* subgengival ($p=0,961$)

Do ponto de vista descritivo nota-se que o grupo experimental do elixir com óleos essenciais apresentou menores valores de CFU, de segunda consulta, quando comparado com o grupo de controlo e o grupo experimental com o colutório à base de delmopinol, excepto para as contagens de *Streptococcus mutans* subgengival onde o grupo experimental com o colutório à base de delmopinol apresentou o valor de CFU mais baixo.

3.3.1.2 Avaliação da eficácia do elixir/colutório na inibição de formação de colónias de bactérias aeróbias e anaeróbias, em CFU

A avaliação da eficácia dos produtos experimentais foi obtida pela observação da diminuição do número de unidades formadoras de colónias e a sua significância estatística. Procedemos à comparação das contagens iniciais de bactérias aeróbias e anaeróbias, obtidas de amostras de placa bacteriana supra e subgengivais, com as contagens obtidas após a utilização do produto experimental por um período de duas semanas. As amostras do grupo de controlo não sofreram a acção de nenhum dos produtos experimentais.

A análise dos dados obtidos foi realizada utilizando o teste t para amostras emparelhadas, para a comparação dos valores médios de unidades formadoras de colónias dentro de cada grupo. Esta análise permitiu-nos observar que:

i) No grupo de controlo, não existem diferenças estatisticamente significativas nos valores médios das unidades formadoras de colónias, entre a consulta de início e de fim de estudo com um intervalo de tempo de duas semanas (Tabela 24).

Grupo de controlo	Bactérias					
	Aeróbia			Anaeróbia		
	Início (média)	Final (média)	Início vs. Final (p)	Início (média)	Final (média)	Início vs. Final (p)
Supragengival	2,51	2,70	0,339	2,65	2,59	0,778
Subgengival	2,43	2,42	0,978	2,50	2,38	0,499

Tabela 24 – Valores médios de unidades formadoras de colónias e de *p* obtidos nos testes de avaliação de diferenças de contagens de CFU para bactérias supra e subgengivais, aeróbias e anaeróbias, para o grupo de controlo.

De notar que neste grupo de controlo observou-se um aumento no número de unidades formadoras de colónias para as bactérias supragengivais aeróbias, o que resulta numa correlação negativa ($\rho = -0,137$), embora estatisticamente não significativa ($p = 0,553$).

ii) No grupo experimental do elixir com óleos essenciais existem diferenças estatisticamente significativas nos números médios de unidades formadoras de colónias ($p=0,029$) somente na amostra de bactérias aeróbias subgengivais, como pode ser observado na Tabela 25.

Grupo de óleos essenciais	Bactérias					
	Aeróbia			Anaeróbia		
	Início (média)	Final (média)	Início vs. Final	Início (média)	Final (média)	Início vs. Final
Supragengival	2,43	2,30	0,302	2,57	2,27	0,124
Subgengival	2,30	1,81	0,029*	2,41	2,15	0,247

Tabela 25 – Valores de p obtidos nos testes de avaliação de diferenças de contagens de CFU para bactérias supra e subgengivais, aeróbias e anaeróbias, para o grupo experimental do elixir com óleos essenciais. *Estatisticamente significativo

iii) Os resultados para o estudo dos valores médios de unidades formadoras de colónias no grupo experimental com o colutório à base de delmopinol indicam a não existência de diferenças estatisticamente significativas em todos os parâmetros observados, como se mostra na Tabela 26.

Grupo de delmopinol	Bactérias					
	Aeróbia			Anaeróbia		
	Início (média)	Final (média)	Início vs. Final	Início (média)	Final (média)	Início vs. Final
Supragengival	2,42	2,18	0,130	2,43	2,20	0,207
Subgengival	2,45	2,19	0,140	2,48	2,31	0,400

Tabela 26 – Valores de p obtidos nos testes de avaliação de diferenças de contagens de CFU para bactérias supra e subgengivais, aeróbias e anaeróbias, para o grupo experimental com o colutório à base de delmopinol.

3.3.1.2.1 Comparação dos grupos experimentais de tratamento

Apesar dos valores estatísticos encontrados anteriormente, na observação individual da eficácia de cada tratamento experimental, indicarem, no geral, a pouca eficácia do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol em bactérias aeróbias e anaeróbias cultivadas em laboratório, estudámos se existem diferenças estatisticamente significativas entre os grupos experimentais, relativamente às unidades formadoras de colónias, após 2 semanas de período experimental.

A análise estatística dos valores de unidades formadoras de colónias iniciais indica não existirem diferenças estatisticamente significativas entre os três grupos experimentais, como apresentado na Tabela 27.

	Grupo de controlo	Grupo de óleos essenciais	Grupo de delmopinol	Valor de p
Bactérias supragengivais aeróbias	2,51	2,43	2,42	0,747
Bactérias subgengivais aeróbias	2,43	2,30	2,45	0,825
Bactérias supragengivais anaeróbias	2,65	2,57	2,43	0,360
Bactérias subgengivais anaeróbias	2,50	2,41	2,48	0,911

Tabela 27 – Comparação entre grupos de estudo para unidades formadoras de colónias de bactérias supra e subgengivais, aeróbias e anaeróbias, em baseline, valores em logaritmos e valor de p para a diferença.

Entre os grupos experimentais, e após as duas semanas de utilização dos produtos experimentais, podemos igualmente observar a ausência de significância estatística nas diferenças entre os grupos na Tabela 28.

	Grupo de controlo	Grupo de óleos essenciais	Grupo de delmopinol	Valor de p
Bactérias supragengivais aeróbias	2,70	2,30	2,18	0,194
Bactérias subgengivais aeróbias	2,42	1,81	2,19	0,218
Bactérias supragengivais anaeróbias	2,59	2,27	2,20	0,472
Bactérias subgengivais anaeróbias	2,38	2,15	231	0,821

Tabela 28 – Comparação entre grupos de estudo para unidades formadoras de colónias de bactérias supra e subgengival, aeróbia e anaeróbia, após período experimental, valores em logaritmos e valor de p para a diferença.

De onde se conclui que não se observaram diferenças estatisticamente significativas entre os três grupos experimentais na eficácia sobre as bactérias aeróbias e anaeróbias.

3.3.2 Resultados da componente clínica

Os resultados obtidos na avaliação dos parâmetros clínicos de gengivite e de acumulação de placa bacteriana apresentam-se de seguida

3.3.2.1 Avaliação dos dados de *baseline*

Os três grupos experimentais foram comparados em relação aos dados de *baseline*, para avaliação de diferenças entre eles.

Não foram detectadas diferenças estatisticamente significativas entre os três grupos experimentais relativamente às variáveis demográficas de idade e sexo, como pode ser observado na Tabela 29.

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

Variável	Grupo experimental			Valor de p
	Controlo	Óleos essenciais	Delmopinol	
Idade Média (desvio padrão)	32,4 (11,0)	28,8 (11,7)	35,8 (13,9)	0,095
Sexo Masculino - n (%) Feminino - n (%)	14 (46,7) 16 (53,3)	16 (53,3) 14 (46,7)	14 (46,7) 16 (53,3)	0,842

Tabela 29: Comparação das variáveis demográficas, em *baseline*, entre os grupos experimentais e significância estatística.

Quando comparadas as médias de idade, em anos, não apresentaram diferença de forma estatisticamente significativa, entre os três grupos experimentais ($p = 0,095$). Observou-se que o grupo do colutório à base de delmopinol foi o que apresentou a média de idades maior (35,8 anos) e o grupo do elixir com óleos essenciais apresentou a média de idades menor (28,8 anos).

A distribuição por sexo entre os três grupos experimentais também não se revelou estatisticamente significativa ($p = 0,842$), sendo os grupos relativamente bem equilibrados na distribuição por género.

Os grupos experimentais também não apresentaram diferenças estatisticamente significativas, para as variáveis dependentes observadas na consulta de *baseline*, como pode ser observado na Tabela 30.

Variável	Grupo experimental			Valor de p
	Controlo	Óleos essenciais	Delmopinol	
Índice gengival de Løe & Silness	1,19 (0,34)	1,04 (0,62)	1,14 (0,60)	0,550
Índice de placa bacteriana de Quigley e Hein, modificado por Turesky <i>et al.</i>	2,28 (0,85)	2,48 (0,97)	2,32 (0,80)	0,646

Tabela 30: Valor médio (desvio padrão) das variáveis dependentes, em *baseline*, e significância estatística de comparação entre grupos experimentais

A avaliação do índice gengival de Løe & Silness resultou em valores médios mais elevados no grupo de controlo (1,19) e em valores médios mais baixos no grupo de elixir com óleos essenciais (1,04), apresentando um valor estatisticamente não significativo de $p = 0,550$ para a comparação dos três grupos experimentais nos dados obtidos na consulta de *baseline*.

O estudo da diferença do índice de placa bacteriana de Quigley e Hein modificado por Turesky entre os três grupos experimentais apresentou valores médios de *baseline* estatisticamente não significativos ($p = 0,646$). O grupo que apresentou um valor médio de índice mais elevado foi o grupo de elixir com óleos essenciais (2,48) e o que apresentou um valor médio mais baixo foi o grupo de controlo (2,28).

3.3.2.2 Avaliação dos dados após o período experimental

Relativamente aos índices clínicos, avaliados após as duas semanas de duração do período experimental do estudo, observou-se que o grupo do colutório apresentou, para o índice gengival de Løe & Silness, o valor médio mais baixo (0,483) e o grupo de controlo apresentou o valor médio mais alto (0,730).

Para o índice de placa bacteriana de Quigley e Hein modificado por Turesky, foi o grupo de colutório à base de delmopinol que, tal como tinha acontecido com o índice gengival de Løe & Silness, apresentou o valor médio mais baixo (1,617) e o grupo de controlo o valor médio mais elevado (1,750), como pode ser observado na Tabela 31. Nesta Tabela, apresentam-se os valores médios ajustados a *baseline* e o erro padrão amostral (uma vez que os dados são ajustados não pode ser apresentado o desvio padrão).

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

Variável	Valores médios ajustados § (erro padrão)		
	Controlo	Óleos essenciais	Delmopinol
Índice gengival de Løe & Silness	0,730 (0,41)	0,487 (0,46)	0,483 (0,50)
Índice de placa bacteriana de Quigley e Hein, modificado por Turesky <i>et al.</i>	1,750 (0,68)	1,680 (0,74)	1,617 (0,68)

Tabela 31: Valores médios e de erro padrão das variáveis dependentes, após uso do elixir e do colutório pelo período experimental de 2 semanas.

§ Os valores correspondentes, obtidos na consulta inicial foram utilizados como covariante

Os valores de redução, em percentagem, para o índice gengival de Løe & Silness em relação aos valores iniciais, dentro de cada grupo experimental, podem ser observados na Tabela 32, juntamente com os valores de significância estatística para a diferença.

Índice gengival de Løe & Silness	<i>Baseline</i>	Após 2 semanas	% de redução	Valor de <i>p</i>
Grupo de controlo	1,19	0,730	38,65	0,001*
Grupo de óleos essenciais	1,04	0,487	53,17	0,001*
Grupo de delmopinol	1,14	0,483	57,63	0,001*

Tabela 32: Percentagem e valor de *p* de redução do índice gengival de Løe & Silness, após o período experimental de 2 semanas. * Estatisticamente significativo

As reduções do índice gengival de Løe & Silness são estatisticamente significativas para todos os grupos experimentais. O grupo experimental com o uso do colutório à base de delmopinol apresentou o valor percentual de redução do índice gengival de Løe & Silness mais elevado (57,63%) seguido do elixir com óleos essenciais (53,17%) e do grupo de controlo (38,65%).

O índice de placa bacteriana de Quigley e Hein modificado por Turesky apresenta reduções em todos os grupos experimentais, quando comparado

com os valores obtidos em baseline. As percentagens de redução podem ser observadas na Tabela 33, juntamente com os valores de p para a significância estatística.

Índice de Placa Bacteriana de Quigley e Hein, modificado por Turesky	<i>Baseline</i>	Após 2 semanas	% de redução	Valor de p
Grupo de controlo	2,28	1,750	23,24	0,001*
Grupo de óleos essenciais	2,48	1,680	32,25	0,001*
Grupo de delmopinol	2,32	1,617	30,30	0,001*

Tabela 33: Percentagem e valor de p de redução do índice de placa bacteriana, após o período experimental de 2 semanas. * Estatisticamente significativo.

As reduções do índice de placa bacteriana de Quigley e Hein, modificado por Turesky são estatisticamente significativas para todos os grupos experimentais. O grupo experimental com o uso do elixir com óleos essenciais apresentou o valor percentual de redução do índice de Placa Bacteriana de Quigley e Hein, modificado por Turesky mais elevado (32,25%) seguido do colutório à base de delmopinol (30,30%) e do grupo de controlo (23,24%).

A avaliação estatística dos resultados, quando estudados os três grupos, mostrou existirem diferenças estatisticamente significativas entre os grupos experimentais para o índice gengival de Løe & Silness ($p = 0,040$), mas não para o índice de placa bacteriana de Quigley e Hein modificado por Turesky ($p = 0,068$).

O estudo univariado da análise de covariância, para comparação entre os grupos, dois a dois, indica que os participantes dos grupos de óleos essenciais e delmopinol revelam algumas diferenças estatisticamente significativas, quando comparados com o grupo de controlo, como pode ser observado na Tabela 34, juntamente com as percentagens de redução nos valores dos índices.

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

Variável	Porcentagem de redução e valor de p		
	Óleos Essenciais vs. Controlo	Delmopinol vs. Controlo	Óleos essenciais vs. Delmopinol
Índice gengival de Løe & Silness	33,28% ($p = 0,075$)	33,83% ($p = 0,013$) *	0,83% ($p = 0,524$)
Índice de placa bacteriana de Quigley e Hein (1962), modificado por Turesky <i>et al.</i>	4% ($p = 0,042$) *	7,6% ($p = 0,054$)	3,75% ($p = 0,624$)

Tabela 34: Diferenças entre os grupos experimentais e o grupo controlo, após o período experimental de 2 semanas em percentagem de redução e valor de p .

* Diferente, de forma estatisticamente significativa ($p < .05$)

No final do ensaio clínico, para o índice gengival de Løe & Silness, os participantes do grupo do colutório à base de delmopinol apresentaram um valor médio do índice mais baixo que se traduziu numa redução percentual estatisticamente significativa, quando comparado com o grupo de controlo ($p = 0,013$). O grupo do elixir com óleos essenciais quando comparado com o grupo de controlo não atingiu significância estatística ($p = 0,075$). Entre o grupo do colutório à base de delmopinol e do elixir com óleos essenciais não houve diferença estatisticamente significativa ($p = 0,524$).

Em relação ao índice de placa bacteriana de Quigley e Hein modificado por Turesky, e após as duas semanas de estudo, os participantes do grupo do elixir com óleos essenciais apresentavam uma redução percentual diferente de forma estatisticamente significativa, quando comparado com o grupo de controlo ($p = 0,042$).

Os participantes do grupo de colutório à base de delmopinol também apresentaram um valor mais baixo de redução percentual do índice de placa bacteriana quando comparado com o grupo de controlo, que no entanto não é estatisticamente significativo ($p = 0,054$). Não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos de elixir e colutório ($p = 0,624$).

3.4 Discussão

O sulco gengival saudável, sendo um espaço anatómico que facilita a acumulação bacteriana (Quirynen e Bollen, 1995), apresenta características muito específicas, com predominância de bactérias não viáveis (Hope e Wilson, 2006).

A componente laboratorial deste ensaio clínico testou um elixir com óleos essenciais e um colutório à base de delmopinol em amostras de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* e bactérias aeróbias e anaeróbias subgengivais e supragengivais. Foram observados para o elixir com óleos essenciais e para o colutório à base de delmopinol resultados estatisticamente significativos nas reduções de *Streptococcus mutans* supra e subgengivais e *Lactobacillus* supragengivais.

Uma possível explicação para este facto pode ser encontrada na capacidade do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol em penetrar no biofilme oral, descrita por Simonsson em 1991 e Santos em 2003. Pelo facto de penetrarem na placa bacteriana, o elixir com óleos essenciais e o colutório à base de delmopinol, têm um maior período de acção, actuando na parede celular das bactérias da flora oral, e interferindo com a sua capacidade de agregação de uma forma que pode ser clinicamente relevante, como descrito por Whitaker em 2000 e Takarada em 2004.

O elixir com óleos essenciais demonstrou, neste ensaio laboratorial, efeito sobre o *Streptococcus mutans* supra e subgengival e *Lactobacillus* supragengival. Também foi eficaz na inibição das amostras de bactérias aeróbias subgengivais após duas semanas de utilização, quando comparadas com o início do estudo.

Os resultados de percentagem de inibição de CFU de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* observados neste ensaio clínico vão de encontro aos obtidos em diversos estudos, que referem a eficácia do elixir na placa bacteriana e no *Streptococcus mutans*.

De facto, Fine e colaboradores, em 2000, referem que o elixir com óleos essenciais testado num estudo laboratorial em *Streptococcus mutans* na forma de biofilme e na forma planctónica salivar, levou à redução, após utilização do elixir 2x ao dia por 11 dias, em 50,8% no biofilme (no presente trabalho foi encontrada uma redução de 42,9% de *Streptococcus mutans* supragengival e de 45,2% subgengival) e 39,2% na saliva (Fine *et al.*, 2000).

Num outro estudo, o elixir com óleos essenciais eliminou 78,8% das bactérias da placa bacteriana organizada em forma de biofilme, após o bochecho de 30 seg. com 20 ml da solução, confirmando a informação de que os óleos essenciais possuem uma grande actividade biocida contra os microrganismos orais (Pan *et al.*, 2000)

O colutório à base de delmopinol revelou resultados de inibição estatisticamente significativos para as contagens de unidades formadores de colónias de amostras de *Streptococcus mutans* supragengivais e subgengivais e de *Lactobacillus* supragengivais.

Na avaliação dos resultados de inibição de *Streptococcus mutans* supra e subgengival, o colutório revelou ser eficaz de forma estatisticamente significativa, mas não apresentou diferenças de eficácia quando comparado com o elixir com óleos essenciais. Na inibição de crescimento de *Lactobacillus*, apresentou resultados inferiores ao elixir com óleos essenciais, embora não estatisticamente significativos.

O colutório com delmopinol também não apresentou resultados significativos na redução de contagens de colónias de bactérias aeróbia e anaeróbias supra e subgengivais, o que vai de encontro com os resultados obtidos por Moran, em 1992, que referiu que o delmopinol produziu pouca redução nas contagens de bactérias da placa bacteriana, não havendo diferenças estatisticamente significativas quando comparados com um grupo de controlo negativo (placebo) e outro positivo (clorhexidina a 0,2%).

O efeito dos elixires com óleos essenciais na saúde gengival e na acumulação de placa bacteriana tem sido estudado em ensaios clínicos de curta e longa duração (Paraskevas, 2005).

Na componente clínica do presente trabalho observou-se uma redução estatisticamente significativa nos valores do índice gengival de Løe & Silness, no grupo do colutório à base de delmopinol quando comparado com o grupo controlo, e uma redução estatisticamente significativa do índice de placa bacteriana de Quigley e Hein modificado por Turesky, para o grupo do elixir com óleos essenciais quando comparado com o grupo de controlo. O grupo de elixir com óleos essenciais não diferiu do grupo do colutório à base de delmopinol para qualquer dos índices.

Na literatura científica encontram-se descritas diferentes metodologias para o estudo da eficácia dos óleos essenciais e do delmopinol no controlo da acumulação de placa bacteriana e na prevenção da gengivite.

As situações mais comuns descrevem a comparação do elixir com óleos essenciais, ou do colutório à base de delmopinol, com um bochecho de água, como placebo, ou com um controlo, composto por uma solução alcoólica em diferentes concentrações (Gordon *et al.*, 1985; Grossman *et al.*, 1989; Overholser *et al.*, 1990; Claydon *et al.*, 1996; Hase *et al.*, 1998a; Lang *et al.*, 1998; Charles *et al.*, 2004).

Encontram-se também descritos, na literatura científica, ensaios clínicos nos quais o grupo de controlo é composto por indivíduos que realizam, somente, as técnicas mecânicas de remoção de higiene oral (escovagem e fio dentário), tal como ocorreu no presente ensaio clínico (Tufekci *et al.*, 2008).

Devido às propriedades organolépticas do elixir com óleos essenciais a utilização de água ou de uma solução hidroalcoólica não se revela adequada para a comparação da eficácia com o elixir, pois impede a utilização “cega” do produto pelo participante no estudo.

A utilização de um elixir com óleos essenciais, juntamente com escovagem não supervisionada, está descrita na literatura como produzindo efeitos benéficos na redução de placa bacteriana e na gengivite (Paraskevas, 2005).

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

Os resultados obtidos por ensaios clínicos com o uso de um elixir com óleos essenciais e que utilizaram os mesmos índices, ou semelhantes, para a avaliação da acumulação de placa bacteriana e/ou gengivite, podem ser observados na Tabela 35 (Gordon *et al.*, 1985; Grossman *et al.*, 1989; Overholser *et al.*, 1990; Claydon *et al.*, 1996; Hase *et al.*, 1998a; Lang *et al.*, 1998; Riep *et al.*, 1999; Charles *et al.*, 2004; Sekino e Ramberg, 2005; Tufekci *et al.*, 2008).

Autor	Duração	Grupos experimentais	Placa bacteriana		Gengivite	
			Índice	Redução vs. placebo ou controlo (%)	Índice	Redução vs. placebo ou controlo (%)
Sekino (n = 21)	2 semanas	Listerine Controlo (solução salina)	QHT	27,5	IG	n.a
Riep (n = 24)	5 dias	Listerine Controlo (hidroalcoólica)	QHT	23,0	---	---
Gordon (n = 85)	9 meses	Listerine Placebo (água)	QHT	14,9	IG	20,0
Grossman (n = 481)	6 meses	Listerine Placebo (água)	QHT	24,2	IG	9,4
Overholser (n = 124)	6 meses	Listerine Controlo (hidroalcoólica)	QHT	36,1	MGI	35,9
Charles (n = 107)	6 meses	Listerine Controlo (hidroalcoólica)	QHT	18,8	IG	14,0
Tufekci (n = 50)	6 meses	Listerine Controlo (mecânico)	QHT	53,2	BI	74,5
Presente Estudo (n=90)	2 semanas	Listerine Controlo (mecânico)	QHT	4%	IG	33,28%

Tabela 35: Redução percentual do índice de placa bacteriana e gengivite em estudos com o uso de óleos essenciais

QHT – Índice de placa bacteriana de Quigley e Hein, modificado por Turesky ; IG - Índice gengival de Loe e Silness; MGI – Modificação do índice gengival por Lobene.; BI – índice de hemorragia de Saxton & van der Oudera; n.a – não divulgado/impossível de calcular pelos dados do artigo.

Numa revisão sistemática de estudos de longa duração, efectuado em 2007 por Stoeken, é referido que os óleos essenciais apresentam, consistentemente, resultados significativos na redução da gengivite e da

placa bacteriana, independentemente do índice pelo qual a variável é avaliada, quando comparados com um controlo (Stoeken *et al.*, 2007a).

No ensaio clínico desenvolvido neste trabalho, relativamente à redução de placa bacteriana pelo uso do elixir com óleos essenciais, foi encontrada uma redução de 4%, quando comparado com o grupo de controlo, um valor muito inferior ao documentado na literatura em geral.

No presente ensaio clínico no grupo de elixir com óleos essenciais, o valor do índice gengival, foi 33,28% mais baixo quando comparado com o grupo de controlo.

Este valor encontra paralelo no estudo realizado por Overholser (1990) e situa-se dentro do intervalo de redução do índice gengival descrito por Santos (2003) relativamente ao controlo de placa e gengivite, referindo-se ao uso de óleos essenciais como reduzindo a gengivite entre 23% e 36%.

Quando comparado com o estudo de Tufekci (2008), que utilizou como grupo de controlo a higiene oral mecânica, notamos que o valor encontrado no presente ensaio clínico é muito mais baixo. No entanto o índice utilizado no estudo de Tufekci não pode ser directamente comparado com o índice gengival de Løe e Silness, uma vez que somente avalia a hemorragia gengival.

Analisando os estudos do delmopinol, descritos na literatura, podemos dividi-los em estudos nos quais o uso diário do colutório foi supervisionado pelo investigador (excepto ao fim-de-semana), ou em que não foi supervisionado.

Os resultados relativos à redução do índice de placa bacteriana e do índice gengival podem ser observados na Tabela 36 (Claydon *et al.*, 1996; Hase *et al.*, 1998b; Lang *et al.*, 1998; Addy *et al.*, 2007).

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

			Placa bacteriana		Gengivite	
Autor	Duração	Grupos experimentais	Índice	Redução vs. placebo ou controlo (%)	Índice	Redução vs. placebo ou controlo (%)
Lang (NS) (n = 132)	6 meses	Delmopinol Placebo (água)	IP	35,0	BOP	3,0
Claydon (NS) (n = 422)	6 meses	Delmopinol Placebo (água)	QHT	16,4	MGI	1,0
Hase (NS) (n = 130)	6 meses	Delmopinol Placebo (água)	QHT	13,0	BOP	18,0
Claffey (NS) (n = 246)	3 meses	Delmopinol Placebo (água)	QHT	17,4	MGI	7,3
Addy (NS) (n = 218)	6 meses	Delmopinol Placebo (água)	QHT	21,9	MGI	6,8
Van Steenberge (NS) (n = 234)	3 meses	Delmopinol Placebo (água)	QHT	22,5	MGI	5,1
Hugoson (S) (n = 77)	2 meses	Delmopinol Placebo (água)	QHT	30,4	MGI	2,9
Bergenholtz (S) (n = 72)	2 meses	Delmopinol Placebo (água)	QHT	16,7	MGI	11,8
Attstrom (S) (n = 69)	6 meses	Delmopinol Placebo (água)	QHT	22,0	MGI	6,7
Adriaens (S) (n = 83)	5 meses	Delmopinol Placebo (água)	QHT	19,0	MGI	3,4
Presente estudo (NS) (n = 90)	2 semanas	Delmopinol Controlo (mecânico)	QHT	7,6	IG	33,83

Tabela 36: Redução percentual do índice de placa bacteriana e gengivite em estudos de longa duração com o uso de delmopinol

(S) – supervisionado; (NS) – não supervisionado QHT – Índice de placa bacteriana de Quigley e Hein, modificado por Turesky ; IG - Índice gengival de Løe e Silness; MGI – Modificação do índice gengival por Lobene.; IP - índice de placa de Silness e Løe; BOP – Hemorragia à sondagem; BI – índice de hemorragia de Saxton & van der Oudera IG - Índice gengival de Løe e Silness.

* Participantes não efectuaram outras medidas de higiene oral, incluindo escovagem ou fio, durante o estudo.

Além destes estudos, Collaert em 1992, elaborou um ensaio com 16 participantes voluntários, que se abstiveram das medidas mecânicas de remoção de placa bacteriana por um período de 2 semanas e utilizaram um colutório à base de delmopinol com uma concentração de 0,2%. Encontrou reduções de 55% no índice de placa bacteriana (presença de placa bacteriana avaliada pela aplicação de corante), quando comparado com o valor de baseline (Collaert *et al.*, 1992a).

No presente ensaio clínico, para o grupo experimental com o uso do colutório à base de delmopinol, a redução de acumulação de placa bacteriana em comparação com o grupo de controlo foi de 7,6%, o que uma vez mais, é inferior aos valores encontrados na literatura. Na revisão sistemática efectuada por Pareskevas, os valores de redução de placa bacteriana, quando comparado com o grupo de controlo ou placebo, variaram entre 9,3% e 35% (Paraskevas, 2005).

O colutório à base de delmopinol tem demonstrado possuir, também, boas propriedades de promoção de saúde gengival. No presente ensaio clínico obtiveram-se resultados estatisticamente significativos para o índice gengival quando comparado com o grupo de controlo. O valor do índice gengival de Løe & Silness foi reduzido em 33,83%, valor bem superior aos 1% a 18% descritos nos artigos analisados por Pareskevas (2005).

3.5 Conclusões

Os resultados obtidos neste ensaio clínico são de especial relevância e inovação, uma vez que não existe literatura científica que compare directamente o elixir com óleos essenciais e o colutório à base de delmopinol, utilizados neste estudo. Deste modo, os resultados aqui apresentados representam a produção de novo conhecimento científico para os profissionais de saúde oral.

Neste ensaio clínico o efeito da utilização de um elixir com óleos essenciais e de um colutório à base de delmopinol foi avaliado em comparação com um grupo de controlo, sem utilização de elixir/colutório, durante o período experimental de duas semanas, numa componente laboratorial e clínica.

Na componente laboratorial verificou-se:

- O estudo laboratorial do efeito de um elixir com óleos essenciais e de um colutório à base de delmopinol em *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus*, e

bactérias aeróbias e anaeróbias supra e subgengivais apresentou resultados que são, na sua maioria, aproximados aos relatados na literatura científica.

- Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre o elixir com óleos essenciais e o colutório à base de delmopinol na inibição de crescimento de colónias bactérias, traduzidas em CFU, de *Streptococcus mutans* e de *Lactobacillus* supra e subgengivais.

- Quando comparado com o grupo de controlo, tanto o elixir com óleos essenciais como o colutório à base de delmopinol, foram diferentes, de forma estatisticamente significativa, na inibição do crescimento de *Streptococcus mutans* subgengival. Não houve diferença entre o elixir com óleos essenciais, o colutório à base de delmopinol e o grupo de controlo na inibição de crescimento de colónias de *Lactobacillus* supra e subgengivais.

- Não se observaram diferenças entre o elixir com óleos essenciais e o colutório à base de delmopinol, assim como entre estes e o grupo de controlo, na inibição de crescimento de bactérias aeróbias e anaeróbias.

- A avaliação laboratorial das vantagens de utilização de um elixir com óleos essenciais e um colutório à base de delmopinol durante o período de duas semanas indicam que ambos os produtos são eficazes na redução das contagens de colónias de *Streptococcus mutans*.

Na componente clínica verificou-se:

- Os dois produtos em estudo apresentaram resultados diferentes, registando-se no entanto uma melhoria nos valores dos índices de placa bacteriana de Quigley e Hein modificado por Turesky e índice gengival de Løe & Silness em ambos os casos.

- Quando comparados com o grupo de controlo, somente foram observadas diferenças estatisticamente significativas na redução do índice gengival de Løe & Silness pelo colutório à base de delmopinol e na redução do índice de placa bacteriana de Quigley e Hein modificado por Turesky pelo elixir com óleos essenciais.

- Não se observaram diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos experimentais (uso de elixir com óleos essenciais e o uso de colutório à base de delmopinol) para qualquer dos índices estudados. O valor de redução do índice de placa bacteriana de Quigley e Hein modificado por Turesky e do índice gengival de Loe & Silness, relativos ao grupo de controlo, resulta da utilização da escovagem e método de higiene oral interproximal, após uma consulta de higiene oral.

- A avaliação clínica das vantagens de utilização de um elixir com óleos essenciais e de um colutório à base de delmopinol durante o período de duas semanas, após a realização de uma consulta de higiene oral, não são claras indicando que nenhum dos produtos, por si só, reduz simultaneamente, de forma significativa, a formação de placa bacteriana e gengivite.

*Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas
Bactérias da Placa Bacteriana*

4. Ensaio Clínico II

O Ensaio Clínico II, desenvolvido no âmbito deste trabalho de Doutoramento, relacionou-se com a actuação do elixir com óleos essenciais ao nível dos espaços interproximais.

4.1 Objectivos

O objectivo específico do Ensaio Clínico II consistiu na avaliação e comparação da eficácia, através de índices clínicos, do elixir com óleos essenciais e do uso do fio dentário na redução de acumulação de placa bacteriana e de gengivite nos espaços interproximais.

A partir deste objectivo foram formuladas as seguintes hipóteses experimentais:

4.1.1 H_0 - O grupo experimental com elixir com óleos essenciais não difere significativamente do grupo experimental com fio dentário na redução da inflamação gengival interproximal, avaliada pelo índice gengival modificado de Lobene (Lobene *et al.*, 1986);

H_1 - O grupo experimental com elixir com óleos essenciais difere significativamente do grupo experimental com fio dentário na redução da inflamação gengival interproximal, avaliada pelo índice gengival modificado de Lobene (Lobene *et al.*, 1986);

4.1.2 H_0 - O grupo experimental com elixir com óleos essenciais não difere significativamente do grupo experimental com fio dentário na redução da hemorragia gengival interproximal, avaliada pelo índice de hemorragia de Saxton e Oudera. (Saxton e van der Ouderaa, 1989);

H_1 - O grupo experimental com elixir com óleos essenciais difere significativamente do grupo experimental com fio dentário na redução da hemorragia gengival interproximal, avaliada pelo índice de hemorragia de Saxton e Oudera. (Saxton e van der Ouderaa, 1989);

4.1.3 H_0 - O grupo experimental com elixir com óleos essenciais não difere significativamente do grupo experimental com fio dentário na redução da acumulação de placa bacteriana interproximal, avaliada pelo índice de placa bacteriana de Quigley e Hein (1962), modificado por Turesky *et al.* (1970) (Wilkins, 2005);

H_1 - O grupo experimental com elixir com óleos essenciais difere significativamente do grupo experimental com fio dentário na redução da acumulação de placa bacteriana interproximal, avaliada pelo índice de placa bacteriana de Quigley e Hein (1962), modificado por Turesky *et al.* (1970) (Wilkins, 2005).

4.2 Materiais e Métodos

Um total de 60 indivíduos participaram neste ensaio clínico, seleccionados de entre os alunos do curso de Higiene Oral da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa, que se voluntariaram para o estudo. Para a realização do estudo foram criados dois grupos de 30 participantes.

4.2.1 Selecção dos participantes

A selecção de uma amostra composta por 60 indivíduos permitiu, com a probabilidade de 90% e um nível de significância bilateral de 5%, que diferenças de 0,8 unidades do desvio padrão fossem detectadas entre os grupos.

A selecção de alunos de higiene oral para participar neste ensaio clínico poderia, numa primeira análise, indicar a possibilidade de introdução de viéses nos resultados obtidos pela utilização do elixir com óleos essenciais e do fio dentário na acumulação de placa bacteriana e na gengivite. No entanto, e uma vez que o objectivo é o de avaliar e comparar a eficácia do

elixir com óleos essenciais na inibição da formação de placa bacteriana e de gengivite interproximal com o fio dentário, é fundamental que os participantes sejam capazes de executar a técnica de remoção de placa bacteriana interproximal com o fio dentário de forma correcta. Isso é assegurado exactamente pelo facto de os participantes serem alunos de higiene oral. Os alunos do curso de higiene oral recebem formação específica sobre essa técnica e são regularmente avaliados na eficácia individual de remoção de placa bacteriana interproximal, assim se justificando a escolha deste grupo de participantes.

Após a apresentação dos objectivos e procedimentos do estudo, os participantes assinaram um consentimento informado (Apêndice 1), indicando a sua disponibilidade em participarem no ensaio clínico. Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para a Saúde da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa.

Os critérios de inclusão e de exclusão foram observados na primeira consulta e encontram-se definidos na Tabela 37.

Critérios de inclusão
<ul style="list-style-type: none"> • Ser aluno do Curso de Higiene Oral da Faculdade de Medicina Dentária • Assinar o consentimento informado • Possuir pelo menos dois quadrantes com 6 dentes cada • Possuir acumulação de placa bacteriana nas superfícies dentárias
Critérios de exclusão
<ul style="list-style-type: none"> • Utilizar elixir ou colutório como auxiliar de Higiene oral • Ter realizado uma consulta de Higiene Oral há menos de 6 meses • Ter realizado terapia com antibiótico nos três meses anteriores ao estudo • Possuir cáries extensas, com fractura de peças dentárias

Tabela 37 - Critérios de exclusão e inclusão do Ensaio Clínico II

A observação clínica, na qual decorreu a recolha de dados realizou-se, na clínica da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa.

4.2.2 Atribuição do grupo experimental

Após a observação inicial os participantes foram distribuídos, de forma aleatória por um de dois grupos experimentais, o grupo experimental I, com utilização do elixir com óleos essenciais na sua composição, e o grupo experimental II com a utilização de fio dentário para higiene interproximal.

Esta atribuição decorreu da seguinte forma, foi elaborada uma lista de números sequenciais de 1 a 60 que correspondia ao número total de participantes no estudo, de seguida foi gerado aleatoriamente por computador, um número (1 ou 2), sendo que 1 correspondia ao tratamento experimental do elixir com óleos essenciais e o 2 ao grupo experimental do fio dentário, que se emparelhava com a lista inicial dos 60 números. A atribuição de um dos grupos experimentais experimental terminou quando se atingiu os 30 elementos desse grupo.

Os participantes do grupo experimental I receberam instruções para utilizar 20 ml do elixir com óleos essenciais duas vezes ao dia durante 30 segundos de cada vez, de acordo com as indicações do fabricante, tendo recebido o elixir necessário, para as duas semanas de duração do período experimental. Além do elixir foram também distribuídos uma escova de dentes e um dentífrico fluoretado. Os procedimentos de Higiene Oral deveriam ser realizados duas vezes ao dia, utilizando somente o material que lhes foi atribuído.

Os participantes do grupo experimental II, além da escova de dentes e dentífrico fluoretado, receberam uma embalagem de fio dentário, com a indicação de executarem a sua higiene oral com o material que lhes foi atribuído duas vezes por dia durante duas semanas.

Todos os participantes no estudo receberam uma consulta de higiene oral onde se procedeu à recolha das variáveis de interesse para o estudo, destartarização e polimento de superfícies dentárias. Esta consulta assegurou que todos os pacientes possuíam condições de início no estudo semelhantes uma vez que a realização do polimento de superfícies reduz a

inflamação gengival e a acumulação de placa bacteriana (Goodson *et al.*, 2004).

Decorrido o período experimental de duas semanas, realizou-se uma segunda consulta de higiene oral para a recolha dos dados relativos às variáveis dependentes.

4.2.3 Recolha de dados

A recolha de dados foi efectuada em folha de registo demográfico e clínico. De forma a minimizar a introdução de erros de observação e registo, capazes de distorcer ou mesmo invalidar os resultados, todos os registos das variáveis de estudo foram feitos por um único observador (investigador). A consulta de higiene oral foi realizada pelo observador que recolheu as informações sobre as variáveis de estudo.

O processo da recolha de dados foi dividido em duas fases. A primeira fase consistiu na consulta inicial, denominada de *baseline*, para recolha dos dados de base que se destinaram a estabelecer a situação de início do estudo relativamente às variáveis clínicas de interesse. A observação do paciente decorreu em ambiente clínico e permitiu, além da recolha de informação relativa aos critérios de inclusão e exclusão e dados demográficos, a recolha dos dados das variáveis de estudo necessários para o ensaio clínico e a entrega do material destinado ao seu grupo experimental (elixir com óleos essenciais, escova de dentes e dentífrico fluoretado ou escova de dentes, fio dentário e dentífrico fluoretado).

Cada participante foi informado que seria necessário voltar após duas semanas para nova recolha de informação das variáveis de estudo.

Na segunda fase de avaliação, duas semanas após a primeira consulta, repetiu-se a recolha de informação sobre as variáveis de estudo, o que permitiu a avaliação das hipóteses experimentais.

Todos os participantes voltaram após o período experimental de duas semanas o que permitiu completar a recolha dos dados.

A recolha dos dados decorreu na clínica de higiene oral da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa. Para a observação clínica o participante encontrava-se deitado numa cadeira da equipe dentária. Foi utilizada luz artificial do candeeiro da equipe e aspiração de saliva.

Os instrumentos de observação consistiram num espelho intraoral e numa sonda periodontal para a observação do índice gengival de Lobene para a inflamação gengival e de Saxton & Oudera para a hemorragia gengival.

A placa bacteriana foi corada pela utilização de uma solução de eritrosina a 6% aplicada sobre as superfícies dentárias com o uso de um cotonete e visualizada pela utilização do espelho intraoral e por visão directa. Após este procedimento foi registado o índice de placa bacteriana de Quigley e Hein, modificado por Turesky.

Os dados clínicos foram registados em folhas de observação clínica criadas para o efeito (Apêndice 2).

4.2.4 Descrição das variáveis

As variáveis de estudo estão divididas, de acordo com as suas características, em variáveis de identificação, independentes e dependentes.

As variáveis de identificação permitem caracterizar a amostra de indivíduos. Os indicadores observados foram relativos à idade do participante a 1 de Janeiro de 2008 e à identificação do género pelo registo do sexo do participante numa escala nominal dicotómica (masculino/feminino).

Na Tabela 38 apresentam-se as variáveis de identificação e respectiva escala de mensuração.

Variáveis de identificação	Escala
Género	Nominal dicotómica (Masculino /Feminino)
Idade	Intervalo

Tabela 38 – Variáveis de identificação e respectiva escala

A variável independente é manipulada pelo investigador de forma a observar os efeitos produzidos nas variáveis dependentes. Neste ensaio clínico a variável independente consistiu no tratamento experimental que identificou o grupo no qual os participantes foram colocados. Esta variável foi organizada numa escala nominal com código 1 e 2, sendo que 1 corresponde ao grupo experimental do elixir com óleos essenciais e 2 ao grupo experimental do fio dentário.

Na Tabela 39 apresenta-se a variável independente e respectiva escala de mensuração, que nos identifica o grupo tratamento a que o participante pertencia.

Variável independente	Escala
Grupo experimental	Nominal de 1 e 2 1 – Grupo com elixir de óleos essenciais 3 – Grupo com fio dentário

Tabela 39 – Variável independente e respectiva escala

As variáveis dependentes relacionam-se directamente com as respostas que se procuram. Neste ensaio clínico as variáveis dependentes correspondem aos valores obtidos nos índices clínicos utilizados para a avaliação da acumulação de placa bacteriana e de gengivite, nomeadamente o índice gengival de Lobene (Lobene *et al.*, 1986) e o índice de hemorragia de Saxton & Ouderaa (Saxton e van der Ouderaa, 1989).

Estes índices gengivais são adequados para a avaliação da saúde periodontal interproximal pois a sua aplicação implica a observação as áreas interproximais.

O índice de placa bacteriana utilizado foi o de Quigley e Hein (1962), modificado por Turesky *et al.* (1970). O índice de placa bacteriana foi registado na superfície disto-vestibular, mesio-vestibular, disto-lingual e mesio-lingual, além da superfície vestibular e lingual, o que permitiu a avaliação do espaço interproximal (ADA, 2006).

Na Tabela 40 apresentam-se as variáveis dependentes e respectiva escala de mensuração, que permitiram a caracterização das variáveis observadas.

Variáveis dependentes	Escala
Índice gengival de Lobene em <i>baseline</i> e 2 semanas após primeira consulta	Ordinal de 0 a 4: 0 - Ausência de inflamação. 1 - Inflamação ligeira, pequena alteração de cor e textura. 2 - Inflamação ligeira em toda a área da gengiva. 3 - Inflamação moderada, edema e cor alterada moderada. 4 - Inflamação severa, edema e cor alterada de forma severa, hemorragia espontânea e ulceração.
Índice de hemorragia de Saxton & Ouderaa em <i>baseline</i> e 2 semanas após primeira consulta	Ordinal de 0 a 2: 0 - Sem hemorragia após 30 segundos. 1 - Hemorragia após 30 segundos. 2 - Hemorragia imediata.
Índice de placa bacteriana de Quigley e Hein, modificado por Turesky <i>et al.</i> em <i>baseline</i> e 2 semanas após primeira consulta	Ordinal de 0 a 5: 0 - Sem placa bacteriana 1 - Placa bacteriana pontual na zona cervical 2 - Banda fina contínua de placa bacteriana, até 1mm, na margem cervical 3 - Banda maior do que 1 mm, mas menor do que 1/3 da coroa 4 - Banda maior do que 1/3 da coroa mas menos do que 2/3 da coroa 5 - Placa bacteriana que cobre 2/3 ou mais da coroa do dente

Tabela 40 – Variáveis dependentes e respectiva escala

4.2.5 Metodologia estatística na análise dos dados

A caracterização da amostra estudada foi efectuada utilizando a estatística descritiva para o estudo das variáveis de identificação e avaliação de medidas de localização central e dispersão das variáveis dependentes.

Para a comparação dos valores médios de cada índice avaliado foi realizado um *t-test* emparelhado com um nível de significância de 0,05 o que permitiu comparar a evolução dos índices dentro de cada grupo ao estabelecer a existência de diferenças estatisticamente significativas entre dois pontos no tempo, nomeadamente a consulta de *baseline* e a consulta após duas semanas de utilização do elixir com óleos essenciais e o fio dentário.

A avaliação de diferenças entre os grupos experimentais relativamente aos valores de início de estudo foi efectuada após a verificação da homogeneidade da variância pela aplicação do teste de Levene e a curtose, pressupostos necessários para a realização do teste estatístico do Qui-Quadrado que permitiu a análise dos dados.

As comparações entre os tratamentos no que respeita aos valores do final do estudo foram realizadas utilizando uma análise de covariância (ANCOVA), com o tipo de tratamento como factor e o valor correspondente da variável de interesse em *baseline* como covariante, utilizando um nível de significância de 0,05. A interacção tratamento vs. *baseline* foi analisada. O teste ANCOVA está indicado como o mais adequado para a análise da eficácia de remoção de placa bacteriana em ensaios clínicos (Heynderickx e Engel, 2005).

4.3 Resultados

A informação obtida neste ensaio clínico permitiu caracterizar os participantes assim como conhecer a evolução das variáveis dependentes após o uso do elixir com óleos essenciais e do fio dentário.

Para a avaliação das hipóteses de estudo foram considerados os resultados das componentes dos índices que permitiram a avaliação da acumulação de placa bacteriana e da presença e severidade de gengivite nos espaços interproximais. No entanto, os valores dos índices de todas as superfícies dentárias foram registados e são também apresentados.

4.3.1 Caracterização da amostra

Os participantes neste ensaio clínico apresentaram uma idade mínima de 19 anos e máxima de 34 anos, sendo que a idade média foi de 21,2 anos com um desvio-padrão de 2,8 anos.

A maioria dos indivíduos (80%) era do sexo feminino. O desequilíbrio na distribuição de género na amostra justifica-se pelo facto de a população estudantil do curso de Higiene Oral ser maioritariamente do sexo feminino.

A distribuição de idade e género para cada grupo de participantes no estudo pode ser observada na Tabela 41, assim como o valor de p para a análise da diferença entre os dois grupos para cada uma das variáveis.

Variável	Grupo experimental		Valor de p
	Elixir (n=30)	Fio Dentário (n=30)	
Idade: média (desvio padrão)	21,3 (2,7)	21,1 (2,9)	0,719
Sexo: número (%)			
Masculino	3 (10%)	9 (30%)	0,052
Feminino	27 (90%)	21 (70%)	

Tabela 41: Distribuição de idade e género por grupo experimental e valor de p para diferença entre grupos experimentais.

Da observação dos valores obtidos pelo estudo da significância estatística podemos concluir que não existem diferenças estatisticamente significativas entre os grupos experimentais para a idade e para o género dos participantes.

4.3.2 Evolução dos valores dos índices gengivais e de acumulação de placa bacteriana para cada grupo experimental

A evolução dos índices gengivais e de placa bacteriana nos dois pontos de avaliação do ensaio clínico, consulta de *baseline* e de 2 semanas após o uso do elixir com óleos essenciais ou o fio dentário, pode ser observada na Figura 31. Podem ser observadas reduções nos valores

médios do índice gengival de Lobene (Lobene *et al.*, 1986), do índice de hemorragia de Saxton & Ouderaa (Saxton e van der Ouderaa, 1989) e do índice de placa bacteriana de Quigley e Hein, modificado por Turesky *et al.* (WHO, 2008).

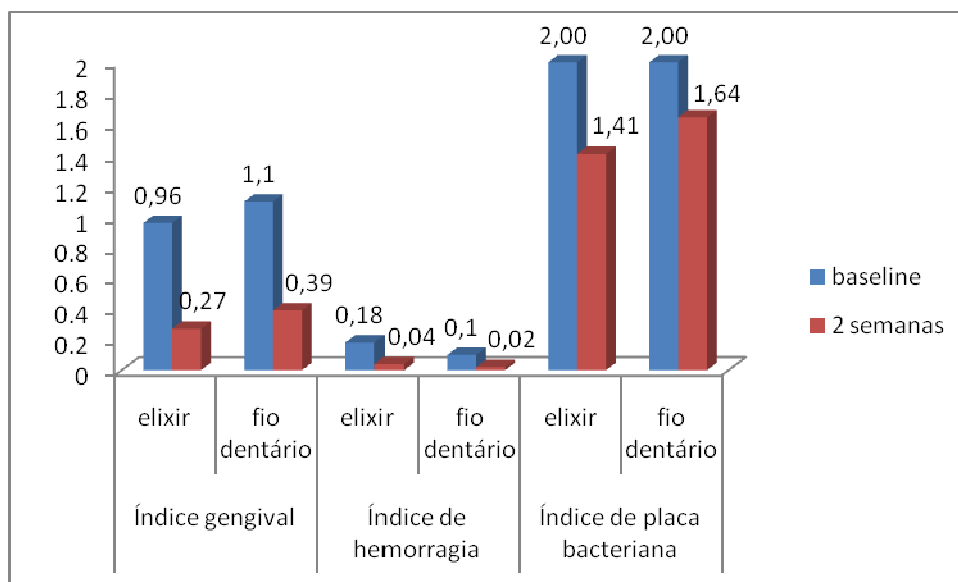


Figura 31: Evolução dos índices gengivais e de acumulação de placa bacteriana, para os dois grupos experimentais, ao longo do ensaio clínico.

As percentagens de redução e a significância estatística apresentadas na Tabela 42 e na Tabela 43 indicam a eficácia do elixir com óleos essenciais e do fio dentário na redução da gengivite e na acumulação da placa bacteriana.

Variável	Grupo experimental					
	Elixir (n=30)			Fio Dentário (n=30)		
	baseline	duas semanas	% de redução	baseline	duas semanas	% de redução
Índice gengival (média)	0,96	0,27	71,9	1,1	0,39	64,5
Índice de hemorragia (média)	0,18	0,04	77,8	0,10	0,02	80,0
Índice de placa bacteriana (média)	2,0	1,41	29,5	2,0	1,64	18,0

Tabela 42: Percentagens de redução dos índices gengivais e de placa bacteriana obtidos em baseline e 2 semanas após o início do ensaio clínico

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

Foram observados valores muito elevados de redução, em percentagem, dos índices estudados. Os valores percentuais de redução mais elevados foram observados no índice hemorragia para o elixir com óleos essenciais e o fio dentário, de 77,8% e 80,0% respectivamente. Para o índice gengival o elixir com óleos essenciais apresentou uma redução de 71,9% e o fio dentário uma redução de 64,5%. O índice de placa bacteriana foi reduzido em 29,5% pelo elixir com óleos essenciais e em 18% pelo fio dentário.

Variável	Grupo experimental					
	Elixir (n=30)			Fio Dentário (n=30)		
	<i>baseline</i>	duas semanas	Valor de <i>p</i>	<i>baseline</i>	duas semanas	Valor de <i>p</i>
Índice gengival (média)	0,96	0,27	< 0,001*	1,1	0,39	< 0,001*
Índice de hemorragia (média)	0,18	0,04	0,016*	0,10	0,02	0,003*
Índice de placa bacteriana (média)	2,0	1,41	< 0,001*	2,0	1,64	0,001*

Tabela 43: Significância estatística das diferenças dos índices gengivais e de placa bacteriana obtidos em baseline e 2 semanas após o início do estudo. * Estatisticamente significativo.

Foram encontradas diferenças sempre com valores estatisticamente muito significativos, na redução de todos os índices quer para o elixir com óleos essenciais quer para o fio dentário.

4.3.3 Evolução dos valores dos índices gengivais e de acumulação de placa bacteriana interproximal para cada grupo experimental

As componentes interproximais dos índices estudados apresentaram uma evolução positiva, de redução, quando os valores obtidos na segunda consulta são comparados com os valores de *baseline* (Fig.32),

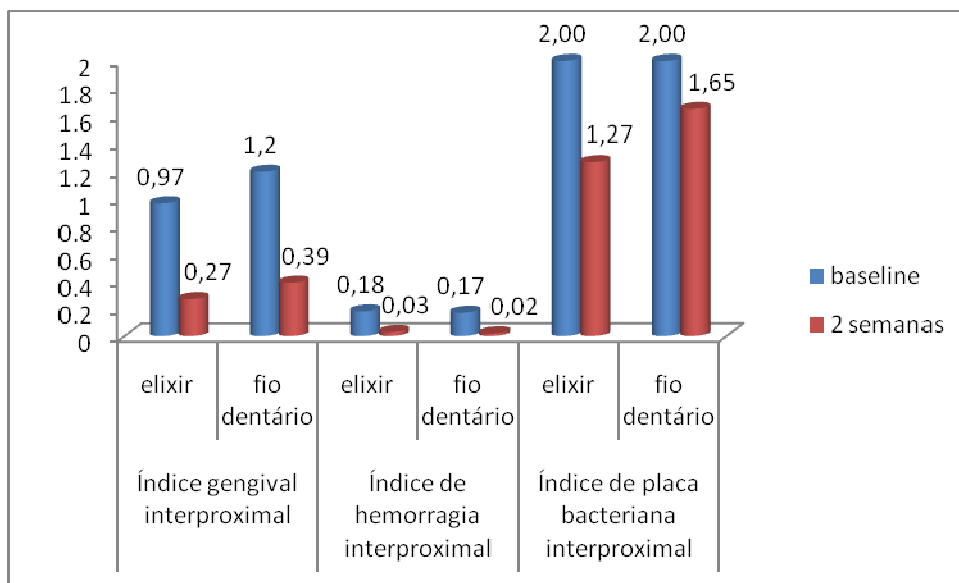


Figura 32: Evolução dos índices gengivais e de acumulação de placa bacteriana interproximais, para os dois grupos experimentais, ao longo do ensaio clínico.

A redução percentual dos índices estudados pode ser observada na Tabela 44.

Variável	Grupo experimental					
	Elixir (n=30)			Fio Dentário (n=30)		
	baseline	duas semanas	% de redução	baseline	duas semanas	% de redução
Índice gengival interproximal (média)	0,97	0,27	72,1	1,2	0,39	67,5
Índice de hemorragia interproximal (média)	0,18	0,03	83,3	0,17	0,02	88,2
Índice de placa bacteriana interproximal (média)	2,0	1,27	36,5	2,0	1,65	17,5

Tabela 44: Percentagens de redução dos índices gengivais e de placa bacteriana interproximais obtidos em baseline e 2 semanas após o início do ensaio clínico

Verifica-se que a maior percentagem de redução ocorreu para o índice de hemorragia gengival interproximal com um valor de 83,3% para o elixir com óleos essenciais e um valor de 88,2% para o fio dentário. O índice gengival interproximal sofreu uma redução em 72,1% causada pelo uso do elixir com óleos essenciais e de 67,5% pelo uso de fio dentário. O índice de acumulação de placa bacteriana interproximal apresentou uma maior redução percentual no grupo que utilizou o elixir com óleos essenciais quando

comparado com o grupo que utilizou o fio dentário, de 36,5% e 17,5% respectivamente.

A significância estatística para a diferença entre os valores dos índices obtidos na consulta de *baseline* e duas semanas após o uso do elixir com óleos essenciais e o fio dentário pode ser observada na Tabela 45.

Variável	Grupo experimental					
	Elixir (n=30)			Fio Dentário (n=30)		
	<i>baseline</i>	duas semanas	Valor de <i>p</i>	<i>baseline</i>	duas semanas	Valor de <i>p</i>
Índice gengival interproximal (média)	0,97	0,27	0,05*	1,2	0,39	< 0,001*
Índice de hemorragia interproximal (média)	0,18	0,03	0,016*	0,17	0,02	0,001*
Índice de placa bacteriana interproximal (média)	2,0	1,27	0,05*	2,0	1,65	< 0,001*

Tabela 45: Significância estatística das diferenças dos índices gengivais e de placa bacteriana interproximal obtidos em *baseline* e 2 semanas após o início do estudo. * Estatisticamente significativo.

Foram encontradas diferenças estatisticamente significativas na redução de todos os índices quer para o elixir com óleos essenciais quer para o fio dentário, sempre com valores muito significativos.

4.3.4 Comparação entre os grupos experimentais dos valores iniciais dos índices de acumulação de placa bacteriana e de gengivite

Os valores dos índices gengivais de Lobene (Lobene *et al.*, 1986), de hemorragia de Saxton & Ouderaa (Saxton e van der Ouderaa, 1989) e do índice de placa bacteriana de Quigley e Hein, modificado por Turesky (WHO, 2008) obtidos para cada um dos grupos experimentais na consulta de *baseline* podem ser observados na Tabela 46, juntamente com o valor de *p* para a diferença estatística entre os grupos experimentais.

Variável	Grupo experimental		Valor de p
	Elixir (n=30)	Fio Dentário (n=30)	
Índice gengival média (desvio padrão)	0,96 (0,79)	1,1 (0,82)	0,314
Índice de hemorragia média (desvio padrão)	0,18 (0,29)	0,10 (0,13)	0,183
Índice de placa bacteriana média (desvio padrão)	2,0 (0,58)	2,0 (0,60)	0,892

Tabela 46: Valores dos índices gengivais e de placa bacteriana obtidos na consulta de baseline e valor de p para diferença entre grupos experimentais.

A observação das componentes interproximais indica-nos valores para estes mesmos índices na consulta de baseline que nos permitiram avaliar a situação a nível de doença gengival e de acumulação de placa bacteriana.

Os valores obtidos estão apresentados na Tabela 47, juntamente com o valor de p para a diferença estatística entre os grupos experimentais.

Variável	Grupo experimental		Valor de p
	Elixir (n=30)	Fio Dentário (n=30)	
Índice gengival interproximal média (desvio padrão)	0,97 (0,79)	1,2 (0,81)	0,214
Índice de hemorragia interproximal média (desvio padrão)	0,18 (0,29)	0,17 (0,23)	0,829
Índice de placa bacteriana interproximal Média (desvio padrão)	2,0 (0,55)	2,0 (0,59)	0,860

Tabela 47: Valores dos índices gengivais e de placa bacteriana interproximais obtidos na consulta de baseline e valor de p para diferença entre grupos experimentais.

Pela avaliação dos valores dos índices obtidos em *baseline* podemos verificar que estamos perante uma população muito próxima de características gengivais saudáveis, apresentando contudo um índice de placa bacteriana elevado.

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos experimentais para os valores dos vários índices.

4.3.5 Comparação entre os grupos experimentais dos valores dos índices gengivais e de acumulação de placa bacteriana após o período experimental.

Após o período experimental de 2 semanas os índices gengivais e de placa bacteriana apresentaram os valores que se podem observar na Tabela 48.

Variável	Grupo experimental		Valor de p
	Elixir (n=30)	Fio Dentário (n=30)	
Índice gengival média (desvio padrão)	0,27 (0,47)	0,39 (0,58)	0,848
Índice de hemorragia média (desvio padrão)	0,04 (0,07)	0,02 (0,05)	0,627
Índice de placa bacteriana média (desvio padrão)	1,41 (0,56)	1,64 (0,39)	0,065

Tabela 48: Valores dos índices gengivais e de placa bacteriana obtidos na segunda consulta e valor de p para diferença entre grupos experimentais.

O valor de p obtido para os valores de índice gengival foi de 0,848 o que indica não existir diferença entre o grupo experimental com o elixir com óleos essenciais e o grupo com fio dentário relativamente ao Índice gengival. Relativamente ao Índice de hemorragia gengival, o valor de $p = 0,627$ indica não existir diferença entre o grupo experimental com o elixir com óleos essenciais e o grupo com fio dentário. O valor de $p = 0,065$ indica não existir diferença entre o grupo experimental com o elixir com óleos essenciais e o grupo com fio dentário relativamente ao índice de placa bacteriana.

Após o mesmo período de duas semanas de uso de elixir com óleos essenciais ou de fio dentário, os valores das componentes interproximais dos índices podem ser observados na Tabela 49.

Variável	Grupo experimental		Valor de p
	Elixir (n=30)	Fio Dentário (n=30)	
Índice gengival interproximal média (desvio padrão)	0,27 (0,47)	0,39 (0,58)	0,938
Índice de hemorragia interproximal média (desvio padrão)	0,03 (0,07)	0,02 (0,04)	0,307
Índice de placa bacteriana interproximal Média (desvio padrão)	1,27 (0,66)	1,65 (0,46)	0,006*

Tabela 49: Valores dos índices gengivais e de placa bacteriana interproximais obtidos na segunda consulta e valor de p para diferença entre grupos experimentais. * estatisticamente significativo.

A análise estatística mostra que, para o índice gengival o valor de p obtido foi de 0,938, pelo que não existe diferença entre o grupo experimental com o elixir óleos essenciais e o grupo com fio dentário. O valor de $p = 0,307$ indica não existir diferença entre o grupo experimental com o elixir com óleos essenciais e o grupo com fio dentário relativamente ao Índice de hemorragia gengival interproximal. Para o índice de placa bacteriana, o valor de p obtido no teste estatístico foi de 0,006, o que indica existir diferença entre o grupo experimental com os óleos essenciais e o grupo com fio dentário relativamente ao índice de placa bacteriana interproximal.

Na realização deste teste verificou-se que o pressuposto de igualdade de variâncias não se verificava, pois o teste de Levene apresentou um valor de $p = 0,024$, que é inferior a 0,05. Nesta situação deve-se baixar o nível de significância de 0,05 para 0,01 de modo a garantir um maior rigor no estudo da hipótese nula (Pallant, 2005).

Após esta correcção, o teste continua a mostrar que existe diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos experimentais relativamente ao índice de placa bacteriana, sendo que o grupo experimental com o elixir com óleos essenciais apresenta uma média do valor do índice mais baixa de forma estatisticamente significativa quando comparado com o grupo do fio dentário.

4.4 Discussão

Diversas técnicas de higiene oral interproximal têm sido utilizadas ao longo do tempo de forma a permitir a remoção de placa bacteriana e prevenir o aparecimento de doenças orais, uma vez que a escovagem não é suficiente para a higienização dos espaços interproximais (Petersilka *et al.*, 2002; Terezhalmay *et al.*, 2008). De entre estas técnicas, especial interesse tem sido prestado à utilização do fio dentário como meio eficaz de redução da placa bacteriana interproximal. No entanto, revela-se uma técnica difícil de executar e que exige elevados níveis de motivação e destreza por parte dos pacientes (Petersilka *et al.*, 2002; Slots e Jorgensen, 2002; Ciancio, 2003; Hujoel *et al.*, 2006; Blanck *et al.*, 2007).

A utilização do fio dentário está demonstrada como eficaz na remoção de placa bacteriana interproximal, independentemente do tipo de fio utilizado (Terezhalmay *et al.*, 2008), estando no entanto também referido que a utilização do fio dentário juntamente com a escovagem é menos eficaz na remoção de placa bacteriana interproximal do que a utilização de elixires antibacterianos e a escovagem (Zimmer *et al.*, 2006). A utilização do fio dentário de forma não supervisionada por um profissional, situação que ocorre na higiene oral pessoal diária, não é eficaz na prevenção da cárie dentária (Hujoel *et al.*, 2006).

A literatura existente, apesar de ser em número reduzido, indica a eficácia de um elixir com óleos essenciais na redução da gengivite e da placa bacteriana nos espaços interproximais (Charles *et al.*, 2000; Fine *et al.*, 2000; Charles *et al.*, 2001). A revisão de artigos experimentais efectuada em 2007 por Stoeken indica que são encontradas diferenças significativas entre a listerine e o fio dentário, favoráveis ao elixir, na redução da gengivite interproximal e na redução da acumulação de placa bacteriana interproximal (Stoeken *et al.*, 2007a).

O elixir com óleos essenciais utilizado neste ensaio clínico, Listerine Cool Mint, foi comparado com o uso de fio dentário encerado. Esta

comparação resultou do facto de se encontrarem descritos na literatura estudos que revelam não existirem diferenças nos resultados clínicos de redução de acumulação de placa bacteriana e gengivite interproximal entre estes dois métodos de controlo de placa bacteriana interproximal (Mandel, 1994; Charles *et al.*, 2001; Sharma *et al.*, 2002; Bauroth *et al.*, 2003; Santos, 2003; Sharma *et al.*, 2004; Stoeken *et al.*, 2007a).

A comprovar-se esta situação, o uso de um elixir com óleos essenciais pode revelar-se uma mais-valia na prevenção das doenças orais uma vez que, por dificuldade de aderência dos pacientes à utilização do fio dentário, a higiene oral interproximal nem sempre é efectuada de forma correcta (Mandel, 1994; Kalsbeek *et al.*, 2000; Ciancio, 2003; Blanck *et al.*, 2007).

Neste ensaio clínico não foi testado o colutório à base de delmopinol uma vez que este produto não apresenta alegações de igualdade ao fio dentário para a remoção de placa bacteriana nem prevenção de ocorrência de gengivite interproximal. Não foi utilizado um grupo de controlo sem realização de higiene oral interproximal por questões éticas, uma vez que é reconhecida a relação entre a má higiene interproximal com a acumulação de placa bacteriana e gengivite.

Os resultados obtidos neste ensaio clínico, são semelhantes ao referidos por Stoeken em 2007 havendo, no entanto, somente diferenças estatisticamente significativas, favoráveis ao elixir com óleos essenciais, na redução da acumulação de placa bacteriana interproximal. Estão também parcialmente de acordo com os obtidos num ensaio clínico realizado por Bauroth em 2003.

Nesse ensaio clínico os participantes foram divididos em três grupos experimentais, o grupo de escovagem e elixir com óleos essenciais, o grupo de escovagem e fio dentário e o grupo de escovagem e bochecho placebo. Verificou-se que a maior redução de placa bacteriana interproximal (avaliada pelo Índice de Placa bacteriana de Quigley e Hein, modificado por Turesky) foi obtida no grupo de escovagem e uso de elixir com óleos essenciais, de forma estatisticamente significativa em relação ao grupo de escovagem e fio dentário (p<0,001). Relativamente ao índice gengival (índice

gengival de Lobene) o grupo com o elixir com óleos essenciais reduziu os valores de índice de forma estatisticamente significativa ($p < 0,001$) quando comparado com o grupo do fio dentário. Os grupos experimentais com o fio dentário e o elixir com óleos essenciais apresentaram resultados melhores, estatisticamente significativos, do que o grupo de bochecho. Este estudo só apresentou percentagens de redução dos índices comparativamente ao grupo de controlo pelo que não é possível realizar comparações na redução percentual com o presente ensaio clínico.

Sharma et al. (2004) realizou um ensaio clínico de 6 meses de duração com 3 grupos experimentais, um grupo de escovagem e utilização de um bochecho de controlo, um grupo de escovagem, fio dentário e um bochecho de controlo e um grupo de escovagem, fio dentário e elixir de óleos essenciais. O grupo de escovagem, fio e elixir com óleos essenciais foi o que apresentou melhores resultados de redução de índice gengival (Løe & Silness) e de placa bacteriana (Quigley e Hein, modificado por Turesky) com reduções de 21% e 51,9% respectivamente, sendo a diferença para os outros grupos estatisticamente significativa.

O resultado obtido no presente estudo está parcialmente de acordo com os resultados encontrados no ensaio clínico realizado por Sharma e colaboradores em 2004, no entanto o grupo que executava o elixir com óleos essenciais também utiliza o fio dentário o que impede a comparação directa com o estudo.

Noutro estudo do mesmo autor utilizando como metodologia de avaliação clínica os mesmo índices do ensaio clínico elaborado para esta dissertação, são comparados três grupos de participantes que executavam um elixir com óleos essenciais, ou o fio dentário ou um bochecho controlo, além da escovagem diária. As conclusões obtidas foram muito semelhantes indicando não existir diferença estatisticamente significativa entre o grupo do elixir e o grupo do fio dentário para o índice gengival e diferença estatisticamente significativa na redução de placa bacteriana interproximal, favorável ao elixir (Sharma *et al.*, 2002) .

Uma redução significativa de placa bacteriana interproximal, sem redução significativa de inflamação gengival foi observada em 1990 por Finkelstein e colaboradores num ensaio clínico. Nesse estudo reduções de 21% na hemorragia gengival interproximal foram obtidas para o fio dentário e de 27% para os óleos essenciais quando comparado com um grupo que somente utilizou uma escova de dentes. Os autores concluíram que o elixir não é eficaz na redução de inflamação gengival e na acumulação de placa bacteriana interproximal.

4.5 Conclusões

Dos resultados obtidos no presente ensaio clínico podemos concluir que:

- O uso do elixir com óleos essenciais e do fio dentário resultou em reduções percentuais estatisticamente significativas nos valores dos índices de placa bacteriana, gengivite e hemorragia gengival, totais e interproximais, após o uso por um período de duas semanas.

- Não existem diferenças estatisticamente significativas entre o fio dentário e o elixir com óleos essenciais na redução de inflamação gengival, hemorragia gengival e acumulação de placa bacteriana em torno das peças dentárias em geral.

- A avaliação dos espaços interproximais mostrou também não existirem diferenças estatisticamente significativas entre o fio dentário e o elixir com óleos essenciais na inflamação e hemorragia gengival.

- O elixir com óleos essenciais apresenta resultados superiores, estatisticamente significativos, na redução da acumulação da placa bacteriana interproximal.

Os resultados obtidos neste ensaio clínico revelam, tal como referido na literatura científica existente, que o elixir com óleos essenciais é mais eficaz, de forma estatisticamente significativa, do que o fio dentário na

*Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas
Bactérias da Placa Bacteriana*

redução da acumulação de placa bacteriana interproximal, o que pode ser de interesse para a prevenção das principais doenças orais.

5. Estudo Descritivo

O Estudo Descritivo, desenvolvido no âmbito deste trabalho de Doutoramento consistiu na avaliação das atitudes dos participantes no Ensaio Clínico I como consumidores do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol e na caracterização desses mesmos indivíduos relativamente ao consumo de alimentos cariogénicos.

Um aspecto interessante do comportamento dos consumidores está relacionado com a sua disponibilidade à introdução de um novo produto nos seus hábitos diários, neste caso um novo produto de higiene oral. Este comportamento pode ser observado pela reacção a um novo produto, pelo hábito de experimentar produtos e pelo interesse em manter o uso de um produto após a sua experimentação (Tuorila *et al.*, 1994; Raudenbush *et al.*, 1998; Loewen e Pliner, 1999).

Os consumidores de novos produtos de higiene oral reagem de modo individual ao produto e reconhecem de forma diferente as características e propriedades desses mesmos produtos. O conhecimento da reacção dos pacientes aos novos produtos que lhes são apresentados na consulta de higiene oral, assim como a avaliação da sua apetência para a utilização, é do maior interesse para auxiliar o profissional de saúde na informação a prestar ao paciente.

5.1 Objectivos

Os objectivos específicos do Estudo Descritivo foram:

- a) Avaliar a reacção dos participantes no Ensaio Clínico I, desenvolvido neste trabalho de doutoramento, aos produtos experimentais usados, nomeadamente o elixir com óleos essenciais e o colutório à base de delmopinol.
- b) Avaliar a percepção dos participantes no Ensaio Clínico I, relativamente à imagem e aos efeitos obtidos pelo uso dos

produtos experimentais, nomeadamente o elixir com óleos essenciais e o colutório à base de delmopinol.

- c) Avaliar os hábitos de consumo de alimentos com potencial cariogénico dos participantes no Ensaio Clínico I.

A partir destes objectivos foram formuladas as seguintes hipóteses experimentais:

5.1.1 H_0 – A percepção sensorial dos produtos não difere significativamente entre os participantes que utilizaram o elixir com óleos essenciais e os participantes que utilizaram o colutório à base de delmopinol;

H_1 - A percepção sensorial dos produtos difere significativamente entre os participantes que utilizaram o elixir com óleos essenciais e os participantes que utilizaram o colutório à base de delmopinol;

5.1.2 H_0 – A percepção de imagem/efeito após a utilização dos produtos não difere significativamente entre os participantes que utilizaram o elixir com óleos essenciais e os participantes que utilizaram o colutório à base de delmopinol;

H_1 - A percepção de imagem/efeito após a utilização dos produtos difere significativamente entre os participantes que utilizaram o elixir com óleos essenciais e os participantes que utilizaram o colutório à base de delmopinol;

5.1.3 H_0 – A opinião sobre a facilidade de uso dos produtos não difere significativamente entre os participantes que utilizaram o elixir com óleos essenciais e os participantes que utilizaram o colutório à base de delmopinol;

H_1 - A opinião sobre a facilidade de uso dos produtos difere significativamente entre os participantes que utilizaram o elixir com óleos essenciais e os participantes que utilizaram o colutório à base de delmopinol;

5.1.4 H_0 – Os participantes no Ensaio Clínico I possuem hábitos de consumo de alimentos cariogênicos;

H_1 – Os participantes no Ensaio Clínico I não possuem hábitos de consumo de alimentos cariogênicos.

5.2 Material e Métodos

Neste estudo descritivo os participantes do Ensaio Clínico I responderam um questionário cujo preenchimento decorreu no início da segunda consulta de recolha de dados, após a utilização do elixir com óleos essenciais ou do colutório à base de delmopinol por um período de duas semanas.

5.2.1 Questionário

O questionário utilizado (Apêndice 3) foi desenvolvido para este trabalho de Doutoramento e consistiu em afirmações sobre as quais o participante tinha que indicar a sua opinião, escolhendo um valor de uma escala de respostas.

Este tipo de escolha forçada, denominada de “medidas ipsativas”, permite evitar o falseamento das respostas por limitar os valores possíveis em cada item. As medidas ipsativas, por apresentarem respostas de opinião individual não devem ser validadas, nomeadamente pela aplicação do teste estatístico α de *Cronbach*, pelo que a validação de um questionário neste tipo de situações não se aplica (Muller e Welter, 2007).

O questionário aplicado aos participantes estava organizado em cinco dimensões, num total de 26 questões. A primeira dimensão teve por objectivo a caracterização da amostra e foi composta por 3 perguntas. A segunda dimensão pretendeu conhecer a apetência dos consumidores pela utilização de novos produtos e consistiu em 3 perguntas. A colaboração na execução das actividades foi estudada na terceira dimensão tendo para isso sido colocada uma pergunta do tipo sim/não que implica resposta a uma questão aberta em caso de indicação de resposta negativa, do tipo “se não, porquê?”. Na quarta dimensão procedeu-se à avaliação do elixir com óleos essenciais ou do colutório à base de delmopinol, utilizando-se 11 perguntas. A quinta e última dimensão avaliou o consumo de alimentos com repercussões na saúde oral – alimentos com potencial cariogénico, e incluiu 8 perguntas.

Para cada dimensão foi definida uma vertente metodológica. Assim para a primeira e segunda dimensão, a análise do aspecto demográfico da amostra em estudo e a reacção a novos produtos foram estudadas com base em metodologia quantitativa. Na terceira dimensão efectuou-se a análise de conteúdo, para avaliação da resposta à questão aberta, com base em metodologia qualitativa. Para a quarta dimensão foi efectuada a análise dos aspectos de percepção sensorial, de imagem e facilidade de uso do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol, com base em metodologia quantitativa e, na quinta dimensão, procedeu-se à análise dos aspectos relacionados com a frequência de consumo de alimentos cariogénicos, com base em metodologia quantitativa.

A quarta dimensão baseia-se na capacidade dos indivíduos em perceberem os efeitos do produto experimental. Os efeitos apercebidos consistem num conjunto de características que poderão ser valorizadas, de forma distinta pelos utilizadores, que as irão relacionar com o seu estado de saúde oral. Como consequência dessa valorização, os produtos podem ser considerados uma mais-valia para a manutenção ou melhoria da saúde oral.

O consumo de alimentos potencialmente cariogénicos indica a presença de um factor de risco para a cárie dentária. O reconhecimento

desse factor de risco pode reforçar a necessidade e a intenção de uso de um elixir com óleos essenciais ou de um colutório à base de delmopinol. A análise desta variável pode ajudar a conhecer se o indivíduo está alerta para o consumo frequente de alimentos cariogénicos.

5.2.2 Amostragem

Os participantes no Ensaio Clínico I, descrito anteriormente, colocados nos grupos experimentais com o elixir com óleos essenciais e com o colutório à base de delmopinol, foram seleccionados para responder a este questionário.

Os participantes do grupo de controlo não preencheram o questionário, uma vez que se procurava conhecer a reacção à utilização de um elixir/colutório.

Deste modo a amostra foi composta por 60 indivíduos, divididos de forma igual pelos dois grupos experimentais (30 participantes em cada grupo).

5.2.3 Descrição das variáveis

As variáveis de estudo consistem em variáveis de caracterização da amostra, organizadas em diferentes dimensões, na variável independente e nas variáveis dependentes.

5.2.3.1 Variáveis de caracterização da amostra

Os consumidores podem ser considerados um grupo heterogéneo com padrões de comportamento variados, sendo caracterizados de diversas formas, entre elas pelo género, a idade e a escolaridade (Bleil, 1998).

A caracterização da amostra foi iniciada pela identificação do género numa escala nominal dicotómica e que corresponde à primeira pergunta (P1) do questionário.

A informação relativa à idade, que corresponde à segunda pergunta (P2) do questionário, foi classificada de acordo com uma escala intervalar composta por quatro intervalos de classe, nomeadamente e por ordem crescente: 15 -24 anos, 25 – 44 anos, 45 – 64 anos e mais de 65 anos de idade. A idade de 15 anos foi considerada o limite inferior da escala inicial de grupo etário do estudo pois consiste na idade a partir da qual um indivíduo é considerado consumidor (Lappalainen *et al.*, 1998; Karsaklian, 2004).

A obtenção de informação sobre a escolaridade dos participantes, que correspondeu à terceira pergunta (P3) do questionário, permitiu identificar as suas habilitações literárias. As respostas foram organizadas numa escala ordinal com início na escolaridade primária, seguida da escolaridade do 5º ao 9º ano, da escolaridade do 10 ao 12º ano, da escolaridade superior e finalmente uma opção de resposta para os indivíduos que não possuíam habilitações literárias.

Um aspecto que permite a caracterização do consumidor está relacionado com a apetência pela utilização de novos produtos (Frank e Kalisewicz, 2000). O indicador dessa apetência, constituído pela atitude perante o elixir com óleos essenciais ou o colutório à base de delmopinol, foi avaliado pela quarta pergunta (P4) do questionário estando as atitudes perante um novo produto organizadas numa escala nominal com cinco respostas possíveis: curiosidade, indiferença, desconfiança, rejeição e compra imediata.

O hábito de experimentar alimentos diferentes do habitual é um bom indicador da apetência pela utilização de um novo produto (Day *et al.*, 2003) , deste modo a avaliação da aceitação ou rejeição da experimentação de um alimento diferente do habitual foi efectuada pela pergunta número cinco (P5) do questionário. A resposta a esta questão está organizada numa escala nominal dicotómica (sim/não).

A colaboração na execução das actividades do estudo, mais concretamente a utilização diária do produto experimental, foi avaliada por um indicador sobre a utilização do elixir com óleos essenciais ou do colutório à base de delmopinol de acordo com as indicações prestadas ao participante. Este indicador consistiu na questão número seis (P6) do questionário com resposta organizada numa escala nominal dicotómica.

A intenção de continuar a utilizar um produto, neste caso do elixir com óleos essenciais ou do colutório à base de delmopinol, indica-nos também apetência pelo uso de novos produtos (Tuorila *et al.*, 1994). Essa intenção foi avaliada pela afirmação incluída na pergunta número 18 (P18) do questionário, cujas respostas foram organizadas numa escala de Likert com 7 níveis de resposta, nomeadamente: concordo totalmente, concordo bastante, concordo parcialmente, não concordo nem discordo, discordo parcialmente, discordo bastante, discordo totalmente.

5.2.3.2 Variável independente

A variável independente encontra-se já definida do Ensaio Clínico I, e para este Estudo Descritivo encontra-se limitada aos grupos 2 e 3.

Na Tabela 50 apresenta-se a variável independente e respectiva escala de mensuração, que nos identifica o grupo experimental a que o participante pertencia.

Variável independente	Escala
Grupo experimental	Nominal de 2 a 3 2 – Grupo com elixir de óleos essenciais 3 – Grupo com colutório à base de delmopinol

Tabela 50 – Variável independente e respectiva escala

5.2.3.3 Variáveis dependentes

As variáveis dependentes dependem dos procedimentos da investigação, relacionando-se directamente com as respostas que se procuram. Neste estudo descritivo as variáveis dependentes estão

organizadas em dois grandes grupos, a avaliação do uso do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol e a avaliação do consumo de alimentos com potencial cariogénico.

A variável dependente de avaliação do uso do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol possui três dimensões, a dimensão da percepção sensorial do produto experimental, a dimensão de percepção de imagem/efeito após o uso do produto experimental e a facilidade de uso do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol.

A percepção sensorial do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol está dividida em seis indicadores, correspondentes a outras tantas perguntas do questionário. As respostas a estes indicadores encontram-se organizadas na forma de uma escala de Likert com sete níveis, nomeadamente: concordo totalmente, concordo bastante, concordo parcialmente, não concordo nem discordo, discordo parcialmente, discordo bastante, discordo totalmente.

Os indicadores consistem na pergunta número 8 (P8) relativa à aceitação do sabor do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol, na pergunta número 10 (P10) sobre o condicionamento da utilização do produto experimental pelo seu sabor, na pergunta número 11 (P11) relacionada com a dificuldade de utilização do produto experimental devido ao seu sabor residual, na pergunta número 13 (P13) sobre o facto da utilização do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol ser condicionada pela sensação de ardor provocada pelo produto, na pergunta número 14 (P14) relativa ao facto da utilização do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol ser condicionada pela sensação de anestesia causada pelo produto e na pergunta número 15 (P15) sobre a utilização dos produtos experimentais ser condicionada pela alteração do paladar.

A dimensão de percepção de imagem/efeito após o uso do produto experimental possui três indicadores correspondentes a três perguntas do

questionário. As respostas a estes indicadores encontram-se organizadas na forma de uma escala de Likert com sete níveis, nomeadamente: concordo totalmente, concordo bastante, concordo parcialmente, não concordo nem discordo, discordo parcialmente, discordo bastante, discordo totalmente.

Os indicadores correspondem à pergunta número 9 (P9) relativa à percepção de mudanças positivas na saúde oral provocadas pela utilização do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol, à pergunta número 16 (P16) sobre a percepção de presença de manchas extrínsecas no esmalte provocadas pelo uso do elixir ou do colutório e à pergunta número 17 (P17) relativa à percepção de melhoria no hálito provocada pelo uso do elixir ou do colutório.

A dimensão de facilidade de uso de elixir com óleos essenciais e de colutório à base de delmopinol possui dois indicadores que correspondem a duas perguntas do questionário. As respostas a estes indicadores encontram-se organizadas na forma de uma escala de Likert com sete níveis, nomeadamente: concordo totalmente, concordo bastante, concordo parcialmente, não concordo nem discordo, discordo parcialmente, discordo bastante, discordo totalmente.

Os indicadores correspondem à pergunta número 7 (P7) relativa à informação procurada sobre composição do elixir com óleos essenciais ou do colutório à base de delmopinol e à pergunta número 12 (P12) relativa à utilização do elixir ou do colutório ter sido dificultada pela frequência de utilização.

A dimensão de frequência de consumo de alimentos cariogénicos possui 8 indicadores que correspondem a 8 perguntas do questionário. As respostas a estes indicadores encontram-se organizadas numa escala de frequência de consumo com 9 itens, nomeadamente, nunca ou menos de uma vez por mês, uma a três vezes por mês, uma vez por semana, duas a quatro vezes por semana, mais de cinco vezes por semana, uma vez por dia, duas a três vezes por dia, quatro a cinco vezes por dia, mais de seis vezes por dia.

Os indicadores correspondem a perguntas relacionadas com a frequência de consumo dos seguintes alimentos, pergunta número 19 (P19) - bolos e bolachas, pergunta 20 (P20) - refrigerantes, pergunta 21 (P21) - rebuçados, pergunta 22 (P22) - chocolates, pergunta 23 (P23) - compotas, pergunta 24 (P24) - pão, pergunta 25 (P25) - cereais de pequeno-almoço e pergunta 26 (P26) - consumo de doces ao deitar.

5.2.4 Metodologia estatística na análise dos dados

A análise dos dados colhidos no questionário foi efectuada utilizando a estatística descritiva no que se refere a toda a informação que permite a caracterização da amostra.

Foi efectuada a análise de apuramento geral dos resultados, com os respectivos cálculos de frequências absolutas (contagens do número de inquiridos para cada categoria de resposta) e relativas (percentagens do total de inquiridos) para todas as variáveis em estudo. Para algumas variáveis de escala ordinal (escalas de *Likert*) foi adicionalmente analisada a mediana como medida de localização central. Foram também analisadas as relações entre as variáveis dependentes e as variáveis sexo e idade.

Pretendíamos testar se os valores de cada escala de *Likert* são significativamente diferentes entre dois grupos definidos por variáveis de caracterização dos inquiridos (por exemplo entre sexos). Para cada escala ou subescala, testámos a hipótese nula de igualdade nos grupos em estudo. Como as variáveis dependentes são escalas de *Likert* o teste não-paramétrico de Mann-Withney é o mais adequado para a sua análise, uma vez que compara medianas. No caso de se rejeitar a hipótese nula associada ao teste de Mann-Withney, observamos as médias dos *ranks* em cada grupo e sabemos qual dos grupos apresenta valores de escala superiores ao outro.

O nível de significância utilizado como referência para rejeitar ou não as hipóteses nulas é de 0,05. Para mais de dois grupos o teste não

paramétrico da Mediana é o mais adequado, tendo sido realizado para averiguar das diferenças entre as variáveis de caracterização da amostra e os 4 grupos etários.

5.3 Resultados

A apresentação dos resultados inicia-se pela caracterização da amostra total de indivíduos que responderam ao questionário e o seu estudo cruzado por variáveis que a caracterizam, nomeadamente sexo e grupo etário.

A comparação entre os dois grupos experimentais para as variáveis de sexo e grupo etário já foi efectuada e apresentada anteriormente no Ensaio Clínico I, não tendo sido encontradas diferenças estatisticamente significativas entre eles, assim sendo, não se efectuaram comparações baseadas nestas variáveis entre os grupos experimentais.

5.3.1 Caracterização da amostra total

A análise das variáveis de identificação permitiu realizar a caracterização da amostra total, com vantagens para a sua descrição e o seu conhecimento.

A amostra no seu todo, composta por 60 elementos, está perfeitamente equilibrada na distribuição por género (50% do sexo masculino e 50% do sexo feminino).

A maioria dos participantes tem idades compreendidas entre os 15 e os 44 anos (81,7%). A distribuição por grupo etário pode ser observada na Figura 33.

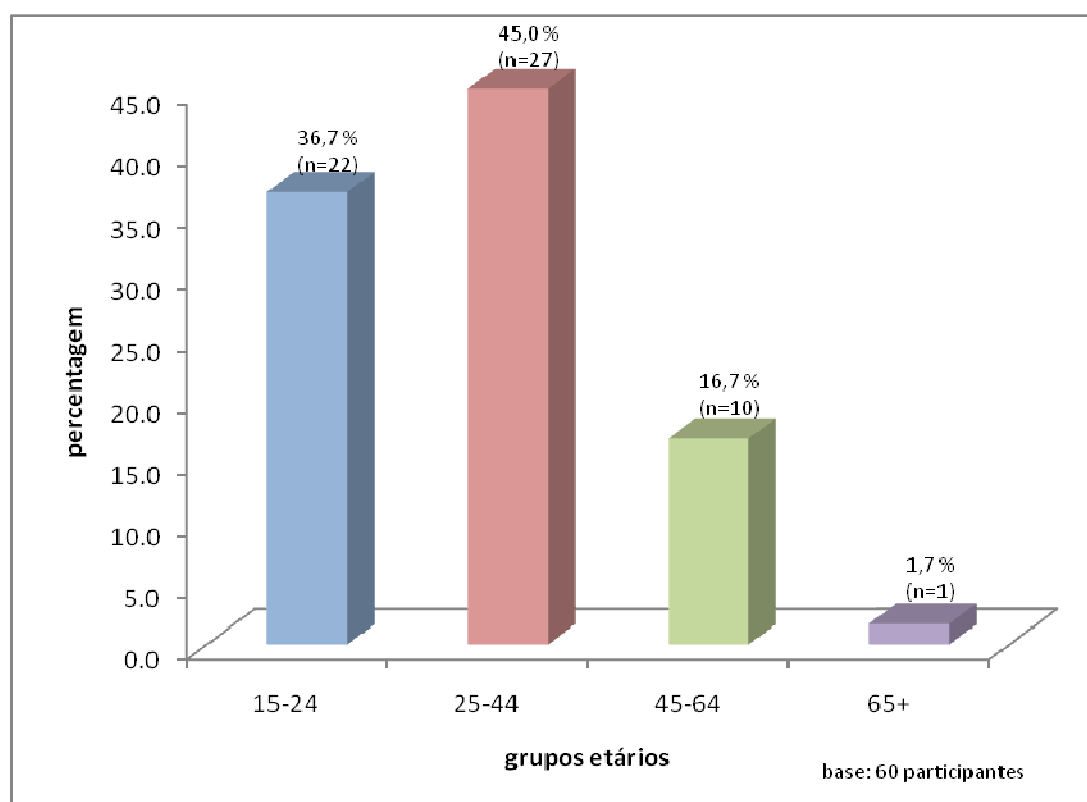


Figura 33: Distribuição por grupo etário, em percentagem, da amostra total.

Observamos que 45% dos indivíduos desta amostra estão localizados no grupo etário dos 25 aos 44 anos, sendo o grupo dos 15 aos 24 anos o que apresenta a segunda maior percentagem de indivíduos, com 36,7% dos participantes. Os grupos dos 45 aos 64 anos e mais de 65 anos são os que apresentam menos indivíduos com 16,7% e 1,7% do total da amostra respectivamente.

Grande parte da amostra possui habilitações literárias entre o 10º e o nível do ensino superior como pode ser observado na Tabela 51.

Escolaridade	n	Percentagem
Primária	1	1,7%
5º ao 9º ano	7	11,7%
10º ao 12º ano	29	48,3%
Superior	23	38,3%

Tabela 51 – Distribuição da amostra, n e percentagem, por escolaridade

Somente um participante (1,7%) indicou possuir a escolaridade primária. O nível de escolaridade indicado por mais respondentes ao questionário foi do 10º ao 12º ano (48,3%), seguido do ensino superior (38,3%) e do 5º ao 9º ano (11,7%).

Na avaliação da reacção perante a introdução de um novo produto nos hábitos de higiene oral diários, neste caso um bochecho de utilização diária, a grande maioria dos respondentes referiu que a primeira reacção a um novo produto é de curiosidade, (76,7%), como pode ser observado na Figura 34.

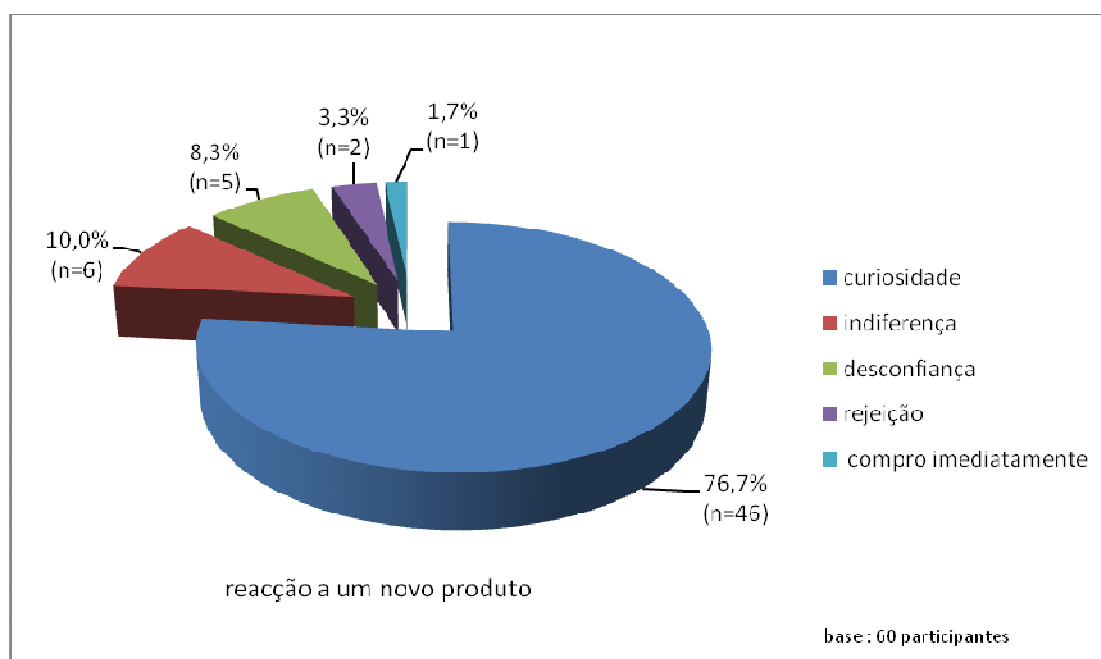


Figura 34: Distribuição, em percentagem, da reacção inicial da amostra total a um elixir / colutório novo

Além da curiosidade, que é a reacção mais comum, surgem também as reacções negativas de indiferença, desconfiança e rejeição com 10%, 8,3% e 3,3% respectivamente. A compra imediata de um produto foi referida por 1,7% dos indivíduos.

O grupo total de indivíduos apresentou uma tendência neofóbica perante um novo alimento, tendo 56,7% dos indivíduos referido que não possuem o hábito de experimentar alimentos diferentes, em oposição a 43,3% que referem experimentar alimentos diferentes do habitual.

Foi solicitada a utilização diária do elixir com óleos essenciais ou do colutório à base de delmopinol durante o período de realização do estudo, a maioria (68,3%) dos participantes seguiu essa indicação, sendo que, de entre os que não utilizaram o elixir com óleos essenciais ou o colutório à base de delmopinol diariamente, a falha mais frequente foi de um dia (20%) havendo também 11,6% dos indivíduos de falharam a utilização do produto por dois dias.

Nesta amostra, 48,3% dos indivíduos referiram a intenção de continuar a usar o elixir com óleos essenciais ou o colutório à base de delmopinol após o período de estudo, 25% revela indiferença na intenção e 26,7% rejeita a intenção de continuar o produto que experimentou, como pode ser observado na figura 35.

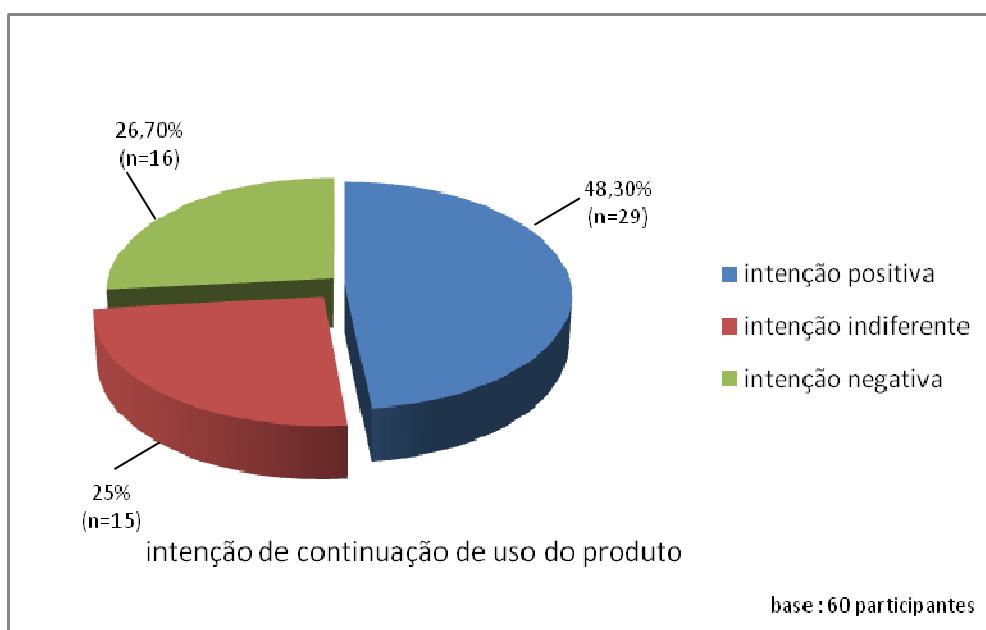


Figura 35: Distribuição, em percentagem, da intenção de continuação de uso de um elixir / colutório novo

A grande maioria dos participantes (85%) refere concordar com a afirmação de que é importante saber a composição e conhecer o produto que estão a utilizar, sendo esta informação indiferente para 15% dos participantes.

5.3.1.1 Caracterização da amostra total - Cruzamento por sexo

O estudo das variáveis de identificação desta amostra com a sua divisão por género permite-nos explorar diferenças devidas à distribuição de indivíduos de sexo masculino e feminino na amostra total.

Quando cruzamos os resultados apurados da amostra total por sexo, verificamos que a maioria dos homens, assim como das mulheres, possuem idades compreendidas entre os 15 e os 44 anos (Figura 36). Não existem diferenças estatisticamente significativas entre as idades dos homens e das mulheres ($p = 0,503$)

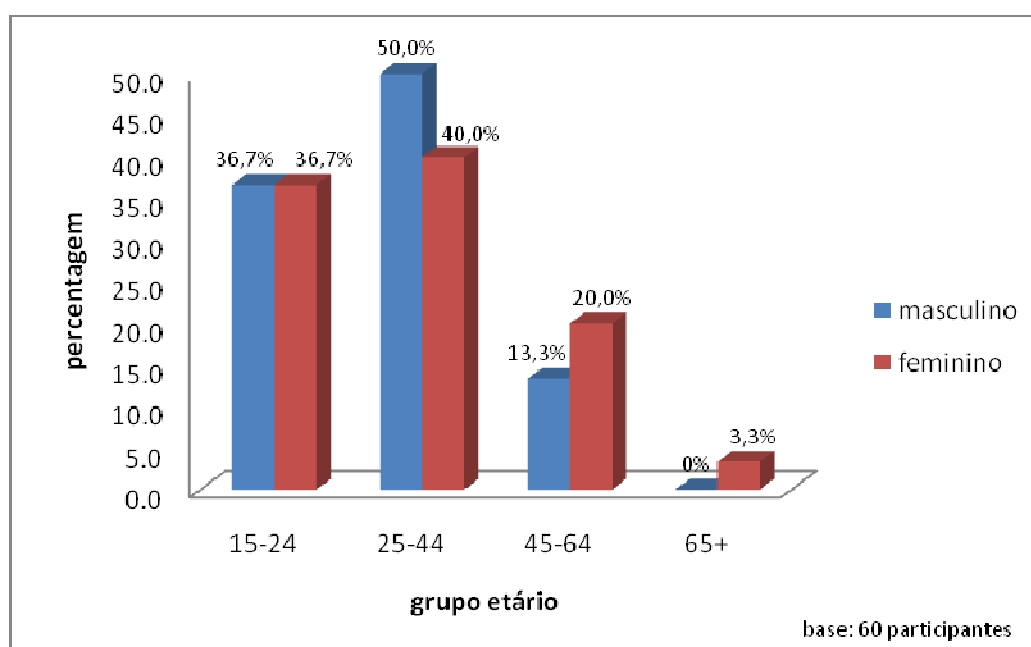


Figura 36: Distribuição por grupo etário, em percentagem, do género na amostra total

O grupo etário dos 15 aos 24 anos possui 36,7% dos homens e essa mesma percentagem das mulheres. No grupo dos 25 os 44 anos podem ser encontrados 50% dos homens e 40% das mulheres. As mulheres encontram-se em maior número, do que os homens, nos grupos etários dos 45-64 anos (20% de mulheres e 13,3% de homens), e de mais de 65 anos (3,3% de mulheres e não se encontrando homens).

A grande maioria dos homens (93,3%) possui escolaridade superior ao 10º ano o mesmo acontecendo com as mulheres (80%), como pode ser observado na Figura 37.

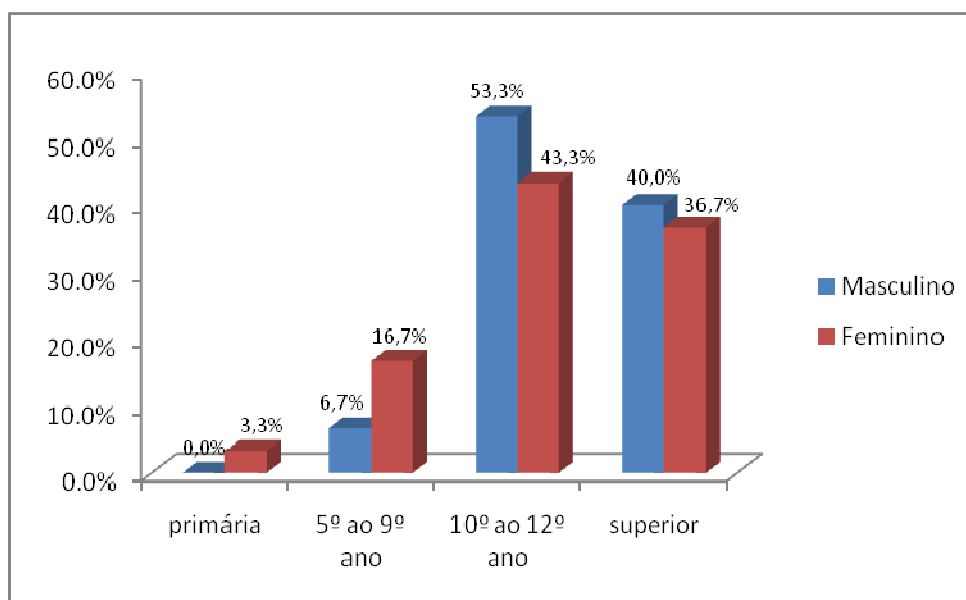


Figura 37: Distribuição por grupo etário, em percentagem, da escolaridade na amostra total

Desta figura podemos observar que a escolaridade para os participantes do sexo masculino encontra-se distribuída com 6,7% dos indivíduos com o 5º ao 9º ano; 53,3% com o 10º ao 12º ano e 40% com o ensino superior. Para o sexo feminino a distribuição é de 3,3% com escolaridade correspondente à primária; 16,7% entre o 5º e o 9ºano; 43,3% entre o 10º e o 12º ano e 36,7% com o ensino superior.

A distribuição da atitude perante a introdução de um novo elixir com óleos essenciais ou um colutório à base de delmopinol nos hábitos de higiene oral é bastante semelhante entre os dois sexos (Figura 38), não havendo diferenças estatisticamente significativas ($p = 0,639$).

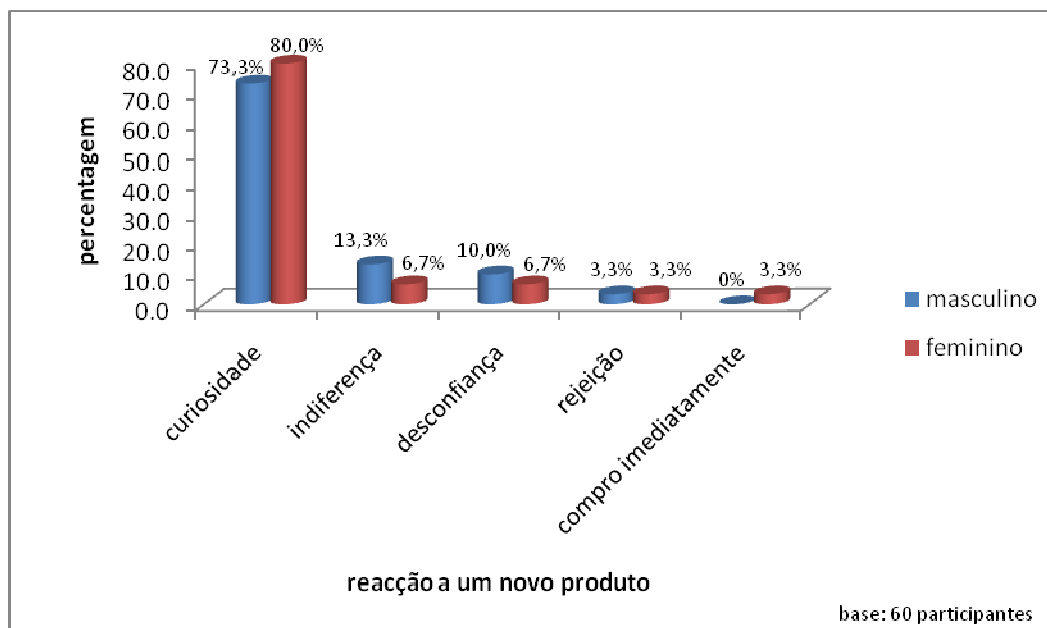


Figura 38: Distribuição por género, em percentagem, da atitude perante um novo produto de higiene oral, na amostra total.

Da Figura 38 podemos verificar que a curiosidade é a reacção predominante em ambos os sexos, sendo uma reacção um pouco mais evidente entre as mulheres. As reacções de menor apreciação, nomeadamente de indiferença e desconfiança são maiores entre os homens (indiferença H:13,3% M:6,7%; desconfiança H:10% M:6,7%) sendo a reacção de rejeição igual entre os sexos (3,3%). A reacção de compra imediata foi somente observada para as mulheres, com 3,3% dos participantes a referirem este tipo de resposta relativamente a um novo produto.

O hábito da experimentação de alimentos novos é indicado de forma negativa pela mesma proporção de indivíduos de cada sexo (56,6%). O que nos indica que independentemente do género estamos perante uma amostra de indivíduos neofóbicos, havendo uma percentagem de 43,3% dos participantes que reportam o hábito de experimentar alimentos novos.

O protocolo do estudo, que exigia a utilização diária do elixir/colutório, foi seguido por 66,7% dos homens e 70% das mulheres, não havendo diferença significativa entre os sexos ($p = 0,783$). A falha mais frequente no protocolo foi a de não realizar o bochecho num dia, igual em ambos os sexos. Finalmente, 53,3% dos homens e 33,3% das mulheres refere a intenção de continuar a usar o elixir/colutório após o período de estudo ($p = 0,629$).

5.3.1.2 Caracterização da amostra total - Cruzamento por grupo etário

A análise de variáveis de identificação por grupo etário permite-nos estudar possíveis diferenças devidas à idade dos indivíduos da amostra. A faixa etária de 65 anos ou mais só possui um elemento, do sexo feminino. Devido à falta de representação do sexo masculino e por ter somente um elemento feminino, as respostas deste grupo etário poderão estar enviesadas.

A distribuição da escolaridade por grupo etário está representada na Figura 39. A única participante com escolaridade primária encontra-se na classe de mais de 65 anos.

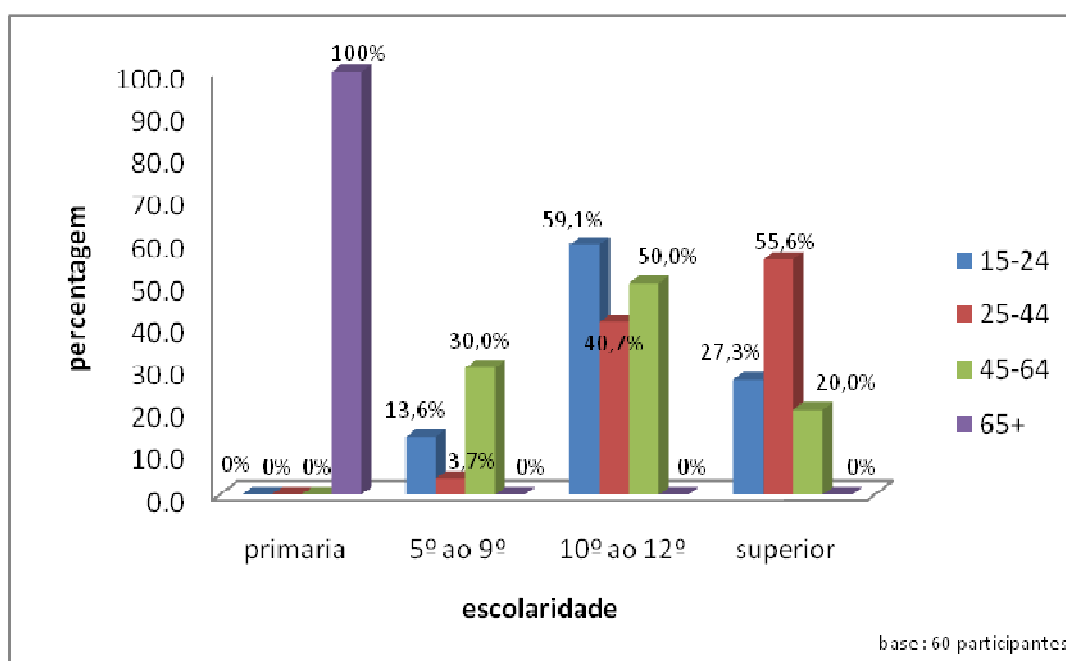


Figura 39: Distribuição por grupo etário, em percentagem, da escolaridade, na amostra total.

A escolaridade mais frequente no grupo etário dos 15 aos 24 anos é do 10º ao 12º ano com 59,1% dos indivíduos, o mesmo ocorrendo no grupo etário dos 45 a 54 anos (50%). No grupo etário dos 25 aos 44 anos a escolaridade mais frequente (55,6%) é o ensino superior. Não existem diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p = 0,087$)

A reacção a um novo elixir com óleos essenciais ou a um novo colutório à base de delmopinol desencadeou curiosidade, pela grande maioria, em todas as faixas etárias, nomeadamente em 72,7% dos indivíduos entre os 15 e os 24 anos; 77,8% dos participantes entre os 25 e 44 anos e 80% entre os 45 e 64 anos. O elemento com mais de 65 anos também referiu a curiosidade como a reacção a um novo produto. A reacção de indiferença foi referida somente pelos indivíduos do grupo etário de 15 a 24 anos (9,1%) e 25 a 44 anos (14,8%). A reacção de desconfiança foi registada no grupo etário dos 15 a 24 anos (9,1%), 25 a 44 anos (3,7%) e 45 a 64 anos (20%). Não existe diferença entre os grupos etários ($p = 0,902$) em relação à reacção a um novo produto de higiene oral.

A rejeição de um novo produto foi somente observada no grupo de 15 a 24 anos (9,1%) e a compra imediata foi observada no grupo de 25 a 44 anos, com 3,7%.

A cooperação com o protocolo de estudo foi elevada em todos os grupos etários, como apresentado na Figura 40, sendo a falha mais frequente a falta de realização do bochecho num dia, não existindo diferenças entre os grupos ($p = 0,717$).

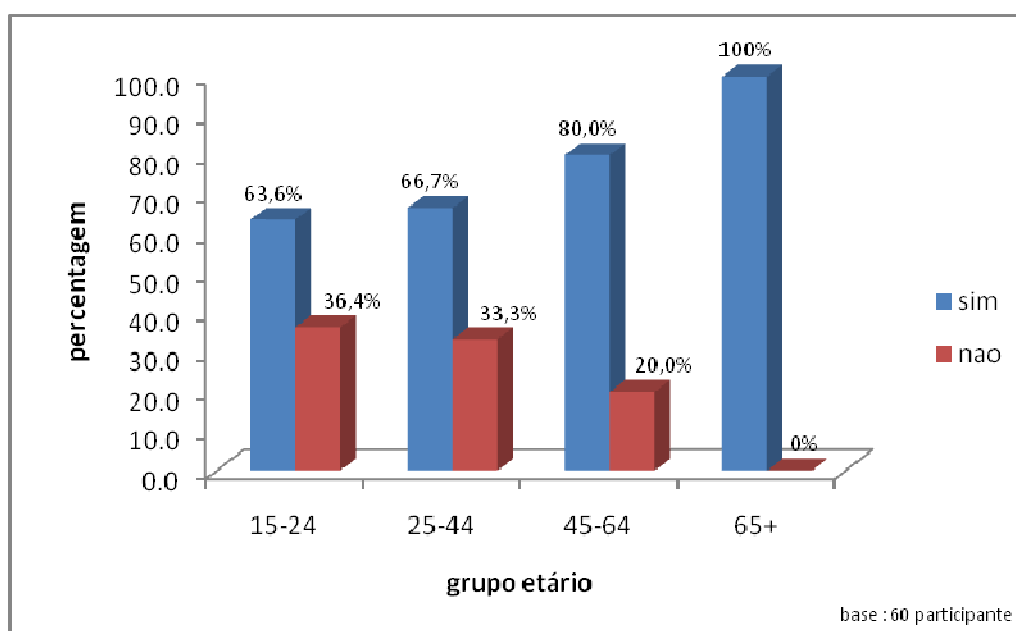


Figura 40: Distribuição por grupo etário, em percentagem, do cumprimento do protocolo de estudo – realização diária do bochecho - na amostra total

Quando questionados sobre a intenção de uso do elixir com óleos essenciais ou do colutório à base de delmopinol após o período experimental, as respostas variaram entre os grupos etários, como pode ser observado pela Figura 41.

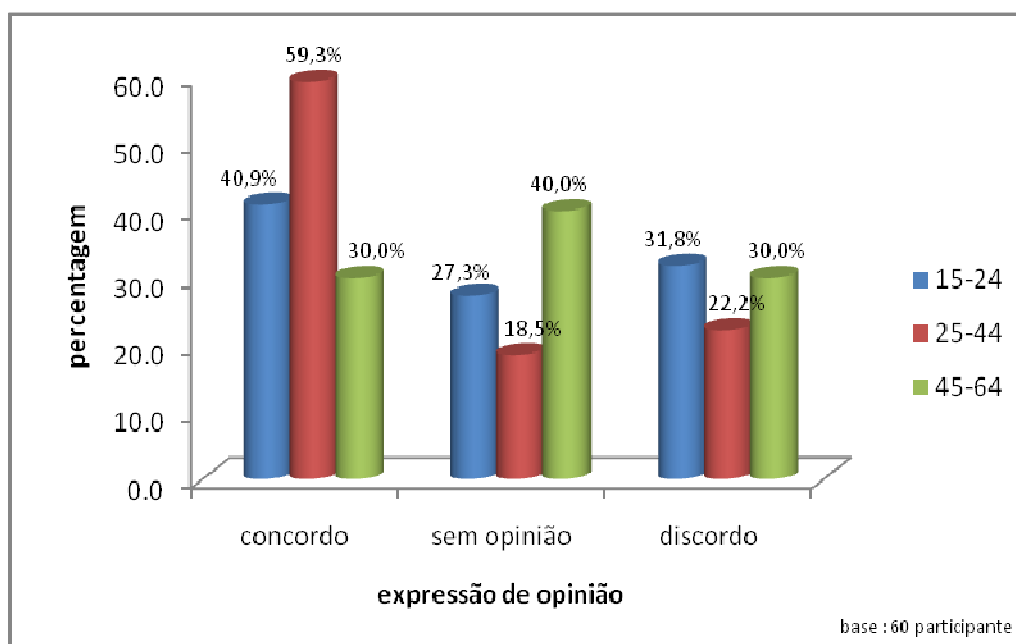


Figura 41: Distribuição por grupo etário, em percentagem, da intenção em continuar a utilizar o elixir/colutório após o período experimental - na amostra total

Não existem diferenças entre os grupos etários ($p = 0,803$) relativamente à intenção de uso de um elixir com óleos essenciais ou do colutório base de delmopinol após o período experimental. Os grupos etários dos 15 aos 24 e dos 45-64 anos foram os que indicaram menor intenção de continuação de uso do produto. A participante com mais de 65 anos indicou intenção de continuar a usar o bochecho.

A experimentação de alimentos novos foi referida como não constituindo um hábito por 50% dos indivíduos no grupo dos 15 aos 24 anos, e por 59,5% e 70% dos indivíduos dos restantes grupos, respectivamente 25 a 44 e 45 a 64 anos. O elemento de 65 ou mais anos indicou ter por hábito experimentar alimentos novos. Estes resultados mostram que as neofobias

mantêm-se em todos os grupos etários com mais do que um elemento na sua composição.

5.3.2 Avaliação do uso do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol

A avaliação do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol está definida em três dimensões: i) a percepção sensorial do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol; ii) a percepção de imagem/efeito após o uso do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol e iii) a facilidade de uso do elixir e do colutório.

5.3.2.1 Avaliação da percepção sensorial do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol

Na observação da mediana das respostas (a mediana mais baixa, de valor 1, corresponde a “concordo totalmente com a afirmação”, sendo que a mediana mais elevada, de valor 7, corresponde a “discordo totalmente com a afirmação”) obtidas nos questionários realizados aos 30 participantes que utilizaram o elixir com óleos essenciais e aos outros 30 participantes que utilizaram o colutório à base de delmopinol, podemos constatar na Figura 42, que a afirmação P8 –“O elixir/colutório que utilizei tinha sabor agradável” possui a mediana de resposta mais baixa (4 - não concordo nem discordo) para o grupo experimental com o uso do elixir óleos essenciais, sendo as respostas para o grupo experimental com o uso do colutório à base de delmopinol mais próximas do discordo totalmente (mediana 5).

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

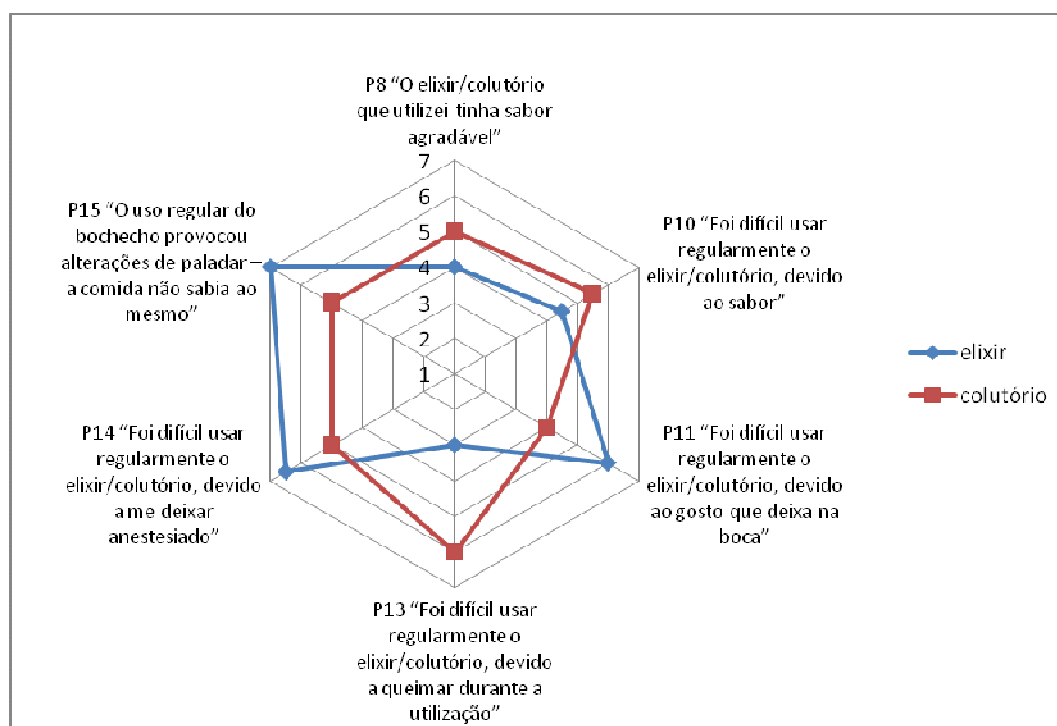


Figura 42 - Distribuição de medianas de respostas às afirmações da dimensão percepção sensorial do elixir/colutório da variável dependente avaliação do elixir/colutório.

A mesma tendência pode ser observada para afirmação P10 ("Foi difícil usar regularmente o elixir/colutório, devido ao sabor"), com uma mediana de 4,5 para o elixir com óleos essenciais e de 5,5 para o colutório à base de delmopinol e P13 ("Foi difícil usar regularmente o elixir/colutório, devido a queimar durante a utilização"), sendo que nesta última a magnitude da diferença é maior, a mediana para o elixir com óleos essenciais foi de 3 e a do colutório à base de delmopinol foi de 6.

Nas afirmações P11 ("Foi difícil usar regularmente o elixir/colutório, devido ao gosto que deixa na boca"), P14 ("Foi difícil usar regularmente o elixir/colutório, devido a me deixar anestesiado"), e P15 ("O uso regular do bochecho provocou alterações de paladar – a comida não sabia ao mesmo") as respostas às afirmações com mediana mais elevada foram registradas no grupo experimental do elixir com óleos essenciais, indicando uma maior discordância com as afirmações apresentadas, quando comparadas com as respostas dos indivíduos do grupo de colutório à base de delmopinol.

A comparação das medianas das respostas da dimensão de percepção sensorial pode ser realizada pela observação da Tabela 52.

Pergunta	Mediana do grupo do elixir	Mediana do grupo do colutório	Valor de p
P8	4	5	0,028*
P10	4,5	5,5	0,927
P11	6	4	0,063
P13	3	6	0,022*
P14	6,5	5	0,011*
P15	7	5	0,067

Tabela 52 – Comparação das medianas das respostas da dimensão de percepção sensorial.

* Estatisticamente significativo

A aceitação do sabor do elixir (P8 –“O elixir/colutório que utilizei tinha sabor agradável”) reflecte a resposta dos indivíduos a esta característica sensorial, podendo ser observada uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos experimentais ($p = 0,028$) pelo que se observa uma diferença de opinião sobre a aceitação de sabor agradável do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol

Sempre que se observou uma diferença estatisticamente significativa, observámos, como é indicado pela metodologia estatística para a análise dos dados, as médias dos *rank*s dados pelo teste estatístico em cada grupo procurando saber qual dos grupos apresenta valores de escala superiores ao outro. O grupo que apresentar um *rank* de menor valor é o de maior concordância com a afirmação apresentada no questionário. Neste caso o grupo do colutório à base de delmopinol apresentou um *rank* de 35,38 e o do elixir com óleos essenciais um *rank* de 25,62, ou seja os indivíduos do grupo do elixir com óleos essenciais apresentam maior satisfação com o sabor do produto.

A utilização do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol pode ser condicionada pelo sabor, isso foi estudado pela análise da afirmação P10 (“Foi difícil usar regularmente o elixir/colutório, devido ao

sabor”), tendo-se verificado que a utilização do elixir com óleos essenciais ou do colutório à base de delmopinol não foi condicionada pelo sabor ($p = 0,927$).

A utilização do elixir com óleos essenciais e com o colutório à base de delmopinol pode deixar um sabor residual que se define por um sabor agradável ou desagradável que se revela após a utilização do produto. A existência desse sabor pode influenciar a sua utilização. A avaliação deste aspecto foi efectuada pela afirmação P11 (“Foi difícil usar regularmente o elixir/colutório, devido ao gosto que deixa na boca”), tendo-se observado que não existe diferença estatisticamente significativa ($p = 0,063$) na opinião dos dois grupos experimentais.

A presença de constituintes no elixir com óleos essenciais e no colutório à base de delmopinol que provocam a sensação de ardor podem também afectar a percepção sensorial do produto. A análise da afirmação P13 (“Foi difícil usar regularmente o elixir/colutório, devido a queimar durante a utilização”) foca esse aspecto e revela que existe uma diferença estatisticamente significativa ($p = 0,022$), sendo que os participantes que utilizaram o elixir com óleos essenciais referiram esta característica como sendo mais pronunciada, com um *rank* de 25.45 e os do grupo de colutório à base de delmopinol com um *rank* de 35.55 pelo que os participantes que utilizaram o elixir com óleos essenciais concordaram mais com a afirmação.

O facto de causar a sensação de anestesia (P14 – “Foi difícil usar regularmente o elixir/colutório, devido a me deixar anestesiado”), indicada como efeito secundário do colutório à base de delmopinol, também pode influenciar a percepção sensorial do produto experimental, os indivíduos que utilizaram o colutório com delmopinol na sua composição reconheceram este facto como causador de dificuldade de utilização, o grupo do colutório à base de delmopinol apresenta um *rank* de 24.97 e o do elixir com óleos essenciais um *rank* de 36.03 ($p = 0,011$).

A alteração do paladar é uma alteração sensorial que condiciona fortemente a frequência de utilização de um produto, a análise desta variável (P15 – “O uso regular do bochecho provocou alterações de paladar – a

comida não sabia ao mesmo”) mostra que não existe diferença entre os dois grupos ($p = 0,067$).

5.3.2.2 Avaliação da percepção de imagem/efeito após o uso do elixir/colutório

Numa observação das medianas desta dimensão verificamos que a afirmação P17 (“O uso regular do bochecho fez-me sentir com melhor hálito”) foi apoiada de forma explícita pelos participantes do grupo experimental com o uso de elixir com óleos essenciais (mediana de 1), havendo medianas de respostas semelhantes para as afirmações P16 (“O uso regular do bochecho fez com que os meus dentes ficassem manchados”) e P9 (“Senti mudanças positivas na minha saúde oral ao usar este elixir/colutório”), como pode ser observado na Figura 43.

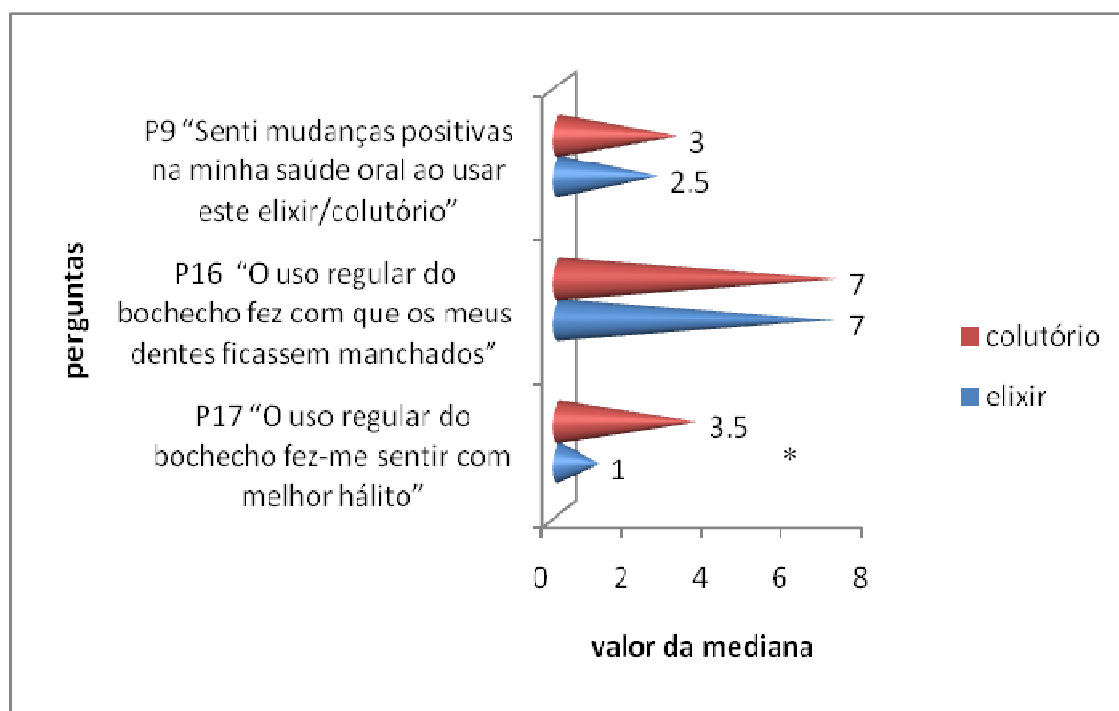


Figura 43 - Distribuição de medianas de respostas às afirmações da dimensão percepção de imagem/efeito após uso do elixir/colutório. * Diferença estatisticamente significativa

A percepção de benefício (como a melhoria de saúde oral) ou aspectos visualmente negativos (como o aparecimento de manchas extrínsecas) é muito importante na avaliação de um produto.

A percepção de mudanças positivas na saúde oral provocadas pela utilização do elixir com óleos essenciais ou do colutório à base de delmopinol foi avaliada pela afirmação P9 (“Senti mudanças positivas na minha saúde oral ao usar este elixir/colutório”) verificando-se que não existe diferença de opinião entre os dois grupos experimentais ($p = 0,298$).

O aparecimento de aspectos negativos pode influenciar de forma vinculada a utilização de um produto, de entre esses aspectos salienta-se o aparecimento de manchas extrínsecas no esmalte provocadas pelo elixir com óleos essenciais e pelo colutório à base de delmopinol P16 – (“O uso regular do bochecho fez com que os meus dentes ficassem manchados”), neste caso os participantes tiveram a mesma opinião e não apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p = 0,309$).

A melhoria de hálito pode representar um dos aspectos principais na colaboração de utilização de um bochecho. A opinião dos indivíduos deste estudo indica que existe uma diferença estatisticamente significativa entre as opiniões dos participantes dos grupos com o elixir com óleos essenciais e o colutório à base de delmopinol ($p = 0,008$) quando se analisa a pergunta P17 (“O uso regular do bochecho fez-me sentir com melhor hálito”). Os participantes do grupo do elixir com óleos essenciais apresentam um *rank* mais baixo (24,73) do que os participantes do colutório à base de delmopinol (36,27), ou seja, os participantes do grupo experimental do elixir com óleos essenciais referiram concordar mais com a afirmação de ter melhor hálito do que os participantes do grupo do colutório à base de delmopinol.

5.3.2.3 Avaliação da facilidade de uso de elixir/colutório

A observação das medianas desta dimensão (Figura 44) permite verificar que a afirmação P7 (“Para mim a informação sobre o elixir/colutório é de grande importância”) apresenta uma mediana baixa para qualquer dos grupos e a afirmação P12 (“Foi difícil usar regularmente o elixir oral, devido à sua frequência de utilização (2 vezes ao dia)”) uma mediana igual para as respostas de ambos os grupos experimentais.

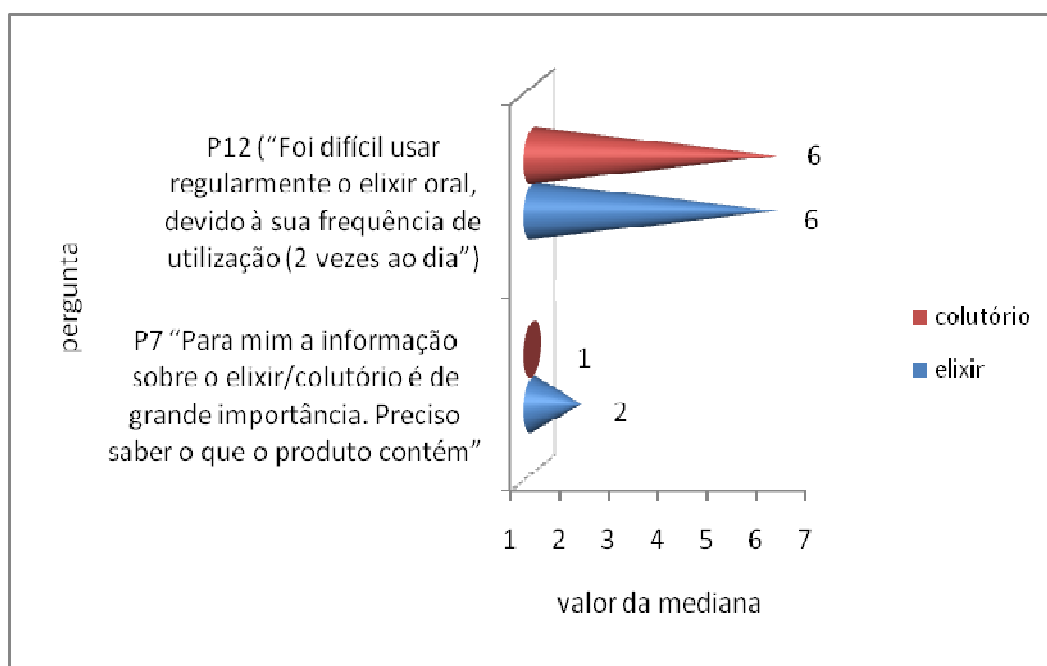


Figura 44 - Distribuição de medianas de respostas às afirmações da dimensão facilidade de uso do elixir/colutório da variável dependente avaliação do elixir/colutório.

A frequência de utilização do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol pode também ser um factor que limite a utilização do produto. A análise da afirmação P12 (“Foi difícil usar regularmente o elixir oral, devido à sua frequência de utilização (2 vezes ao dia)”) revela que não existe diferença entre os grupos ($p = 1,000$).

A informação sobre o uso é um factor essencial para a manutenção da cooperação dos utentes na utilização de um elixir ou colutório. A análise da afirmação P7 (“Para mim a informação sobre o elixir/colutório é de grande importância”). Preciso saber o que o produto contém”) indica que os

participantes dão muita importância à informação do produto, não existindo diferença estatisticamente significativa entre os utilizadores do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol. ($p = 0,073$).

5.3.3 Avaliação do consumo de alimentos com potencial cariogénico

O consumo de alimentos com potencial cariogénico está bem integrado nos hábitos alimentares dos consumidores portugueses, com uma captação média de consumo de sacarose de 90 gramas por dia na população portuguesa de acordo com a Balança Alimentar Portuguesa elaborada pelo Instituto Nacional de Estatística (INE, 1999). Este facto revela-se também na nossa amostra, a maioria dos participantes referiu consumir diariamente pelo menos um dos produtos açucarados que constavam no questionário.

O hábito de consumo dos alimentos cariogénicos que integravam o questionário pode observado na Tabela 53.

Alimento	Nunca ou menos de 1 por mês	1 a 3 por mês	1 por semana	2 a 4 por semana	Mais de 5 por semana	1 vez por dia	2 a 3 por dia	4 a 5 por dia	Mais de 6 por dia
Bolos e bolachas	13,3%	18,3%	31,6%	23,3%	10,0%	3,3%	0%	0%	0%
Refrigerantes	20,0%	18,3%	16,7%	23,3%	6,7%	11,7%	3,3%	0%	0%
Rebuçados	56,6%	25,0%	5,0%	1,7%	1,7%	10,0%	0%	0%	0%
Chocolates	20,0%	35,0%	16,7%	15,0%	3,3%	8,3%	1,7%	0%	0%
Compotas	65,0%	23,3%	5,0%	3,3%	1,7%	1,7%	0%	0%	0%
Pão	0%	0%	6,7%	10,0%	13,3%	30,0%	38,3%	1,7%	0%
Cereais	46,6%	5,0%	3,3%	11,7%	3,3%	26,7%	1,7%	1,7%	0%
Doces ao deitar	83,3%	8,3%	5,0%	1,7%	0%	1,7%	0%	0%	0%

Tabela 53 – distribuição percentual do consumo de alimentos cariogénicos pela amostra.

O estudo do consumo de alimentos potencialmente cariogênicos mostra que não existe o hábito por parte da maioria dos elementos desta amostra de consumirem doces ao deitar.

A distribuição das respostas, em percentagens, dos alimentos de maior consumo encontra-se representada na Figura 45.

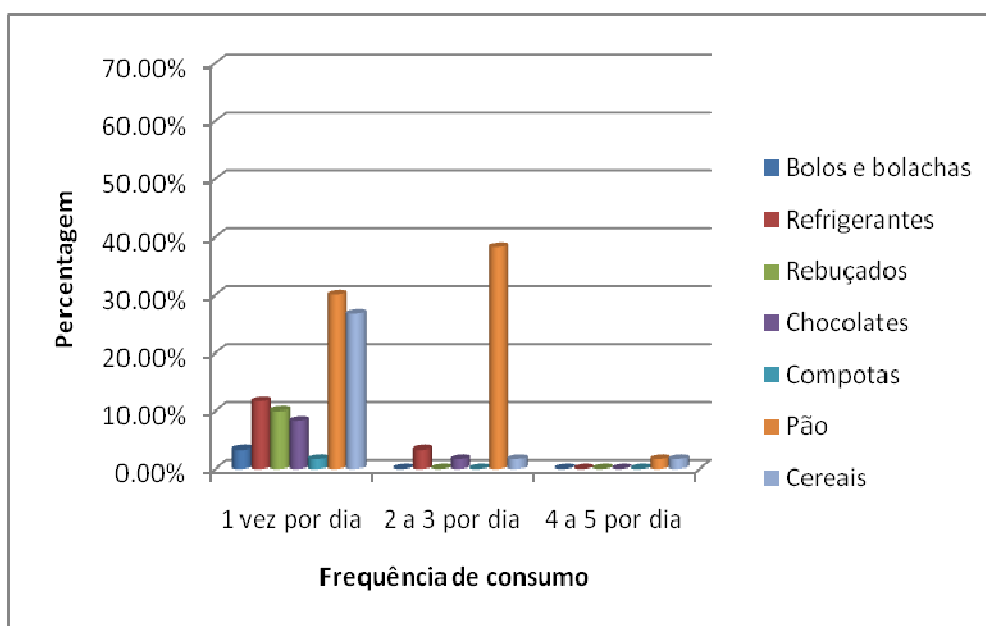


Figura 45: Distribuição, em percentagem, dos alimentos com maior frequência de consumo pela amostra total.

A distribuição em percentagem de respostas de alimentos nunca consumidos ou consumidos menos de uma vez por mês e de consumo reduzido de 1 a 3 vezes por mês é apresentada na Figura 46. O consumo de rebuçados, cereais e compotas é referido pelos inquiridos como sendo os que ocorrem com menor frequência.

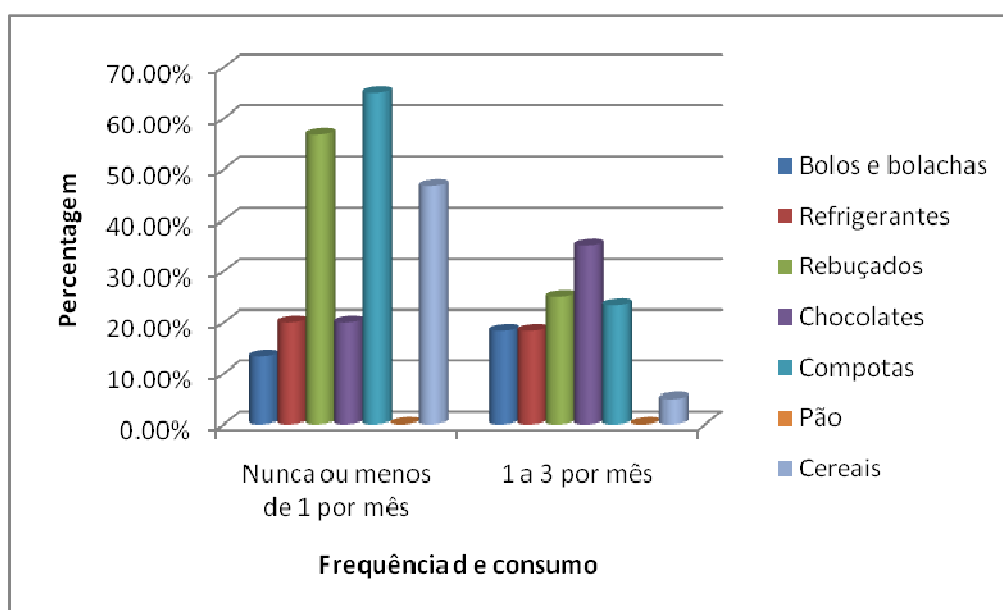


Figura 46: Distribuição, em percentagem, dos alimentos com menor frequência de consumo, pela amostra total

5.4 Discussão

A análise do consumo de produtos de saúde oral é ainda um campo de investigação pouco explorado, principalmente a capacidade de compreensão dos produtos e as razões que levam os consumidores a comprar produtos com indicações de saúde oral.

A atitude do consumidor perante um produto pode ser definida como um conjunto de respostas afectivas e avaliações, não sendo no entanto uma emoção mas sim um julgamento de quanto o consumidor gosta de determinado produto. Esse julgamento é realizado pela intervenção de diversas características inerentes ao produto e capacidades intrínsecas do indivíduo. De entre as características do produto, e especialmente nos produtos de saúde oral, o sabor, a facilidade de uso e as consequências do seu uso, são muito importantes. A capacidade do indivíduo em entender o objectivo da utilização do produto e de compreender as instruções de utilização fornecidas pelo fabricante, são também factores essenciais para a atitude do consumidor perante o produto. A predisposição do consumidor afecta as atitudes de compra. Estima-se que 10% da população apresenta uma disposição negativa no momento do consumo provocada pela

dificuldade em entender a informação do produto e a sua utilização (Maxwell e Kover, 2003).

A importância deste aspecto ficou bem patente nos resultados deste estudo descritivo quando os participantes referiram de uma forma maioritária que a informação sobre o produto que estavam a utilizar é de grande importância, apresentando respostas que correspondem ao extremo de “concordo totalmente” da escala de avaliação da afirmação de facilidade de uso do elixir/ colutório.

Os seres humanos, como indivíduos, apresentam enormes discrepâncias na forma como reagem a novos alimentos. Estas variações são devidas a diversos factores entre os quais se salientam as experiências anteriores e a facilidade de contacto com novos produtos (Tuorila *et al.*, 1994; Raudenbush *et al.*, 1998; Loewen e Pliner, 1999; Frank e Kalisewicz, 2000).

Neste estudo notámos que a nossa amostra é essencialmente neofóbica, pois 56% dos indivíduos do sexo masculino e feminino referiram não experimentarem novos alimentos. Na avaliação por grupo etário a neofobia revelou-se num intervalo de 50 a 70% dos indivíduos, sendo maior nos grupos etários mais elevados, o que está de acordo com as características da sociedade ocidental europeia em contraste com sociedades mais recentes e de maior variedade cultural (Flight *et al.*, 2003).

A reacção inicial de curiosidade perante um novo produto é característica da nossa sociedade europeia mais conservadora, pois permite ao indivíduo o estabelecimento de uma relação com o produto, que não implica intenção de compra, de forma a tentar saber se o produto lhe poderá proporcionar bem-estar pessoal ou integração social (Bleil, 1998). Esta reacção está bem marcada na amostra deste estudo descritivo pois 76,7% da amostra total mostrou curiosidade perante um novo produto sendo as mulheres ligeiramente mais “curiosas” (80%) em relação aos homens (73,3%). Relativamente ao grupo etário a curiosidade manifesta-se maior no grupo dos 45 a 64 anos de idade com 80% dos seus elementos a referirem esta reacção.

Os modelos conceptuais da satisfação do consumidor referem que a percepção do produto é sempre comparada com a expectativa inicial que o consumidor possui antes da utilização (Newsome e Wright, 1999a). As características individuais influenciam as percepções do consumidor, assim, e relativamente à idade, os pacientes mais idosos (com mais de 60 anos) tendem a possuir uma maior satisfação com os cuidados de saúde oral do que os pacientes mais novos. As mulheres são geralmente os consumidores com maiores níveis de satisfação com os cuidados orais e os consumidores de estrato socioeconómico mais baixo são os que indicam uma menor satisfação com os cuidados de saúde oral e uma menor procura de produtos de saúde oral (Newsome e Wright, 1999b).

Os resultados obtidos neste estudo estão de acordo com as informações fornecidas pelos fabricantes do elixir e do colutório, de facto o elixir com óleos essenciais e o colutório com delmopinol possuem na sua composição constituintes que vão provocar percepções sensoriais bem definidas.

O elixir com óleos essenciais estudado possui uma elevada concentração de álcool etílico na sua composição (21,5%) que, por si só, provoca a sensação de ardor na mucosa oral e língua e possível alteração de paladar. O colutório à base de delmopinol provoca sensação de anestesia dos tecidos moles e também alteração de paladar, possuindo ainda um sabor residual após a utilização. Estas características foram bem identificadas pelos participantes e a distinção entre os produtos em estudo foi clara, sendo que os utilizadores do colutório à base de delmopinol referiram que lhes foi difícil utilizar o colutório devido ao sabor, devido à sensação de anestesia e a alteração de paladar. Os utilizadores do elixir com óleos essenciais apreciaram mais o sabor do elixir mas referiram que tiveram dificuldade em usar o produto devido ao facto de “queimar” durante a utilização.

O elixir com óleos essenciais recebeu maior aprovação no facto de proporcionar melhor hálito o que está de acordo com a afirmação de que a

redução da halitose pelo uso de um elixir com óleos essenciais é eficaz por 2 a 3 horas (van den Broek et al., 2008).

A afirmação, efectuada pelos fabricantes, de que o elixir com óleos essenciais e o colutório à base de delmopinol não provoca o aparecimento de manchas extrínsecas foi suportada pelos participantes no estudo que também indicaram uma concordância relativa com a afirmação de que sentiram mudanças positivas na sua saúde oral.

O consumo de alimentos potencialmente cariogénicos revela a apreciação pelos alimentos açucarados existindo uma maior apetência por bolos, bolachas, refrigerantes e cereais de pequeno-almoço. Estes alimentos são os que recebem maior publicidade (em comparação com reбуçados e compotas, os alimentos cariogénicos referidos como de menor consumo). O marketing e a publicidade podem exercer estímulos sobre o consumidor, influenciando o consumo e os hábitos alimentares dos indivíduos ou da sociedade. Num estudo publicado pela DECO refere-se que *“durante a programação infantil, a maioria dos anúncios mostra bolos, bolachas, cereais de pequeno-almoço açucarados e aperitivos salgados. Todos estes produtos são ricos em açúcar, gordura ou sal. Ou seja, parte significativa da publicidade é dedicada a produtos que, numa dieta alimentar saudável e equilibrada, devem ser consumidos com moderação”* (DECO, 2005). Esta influência da publicidade no caso da saúde oral pode ser prejudicial uma vez que o consumo de alimentos ricos em hidratos de carbono representa um factor de risco para a saúde oral.

5.5 Conclusões

Os resultados obtidos neste Estudo Descritivo revelam que a amostra estudada possui uma primeira reacção de curiosidade quando confrontada com um produto para utilização na sua higiene oral diária, independentemente do sexo ou idade. Esta reacção é muito comum no consumidor da sociedade ocidental, assim como o facto de existir uma certa adversidade a novos produtos que podem alterar a rotina diária de consumo. Esta neofobia é característica da sociedade europeia ocidental, mais

tradicional, e observa-se um pouco por todos os grupos etários, como ocorre na amostra estudada.

Dos resultados obtidos no presente Estudo Descritivo pela comparação dos indivíduos dos dois grupos experimentais, no que respeita à percepção sensorial do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol podemos concluir que:

- Os participantes que utilizaram o elixir com óleos essenciais indicaram, de uma forma estatisticamente significativa, uma maior aceitação do sabor do produto quando comparados com os indivíduos que utilizaram o colutório à base de delmopinol.

- Os participantes que utilizaram o elixir com óleos essenciais indicaram que o facto de o produto provocar a sensação de queimadura na boca dificultava a sua utilização, tendo sido observada uma diferença estatisticamente significativa quando comparada com a opinião dos participantes que utilizaram o colutório à base de delmopinol.

- Os participantes que utilizaram o colutório à base de delmopinol indicaram que o produto provocava a sensação de anestesia da cavidade oral. Esta opinião foi diferente, de forma estatisticamente significativa, da dos participantes que utilizaram o elixir com óleos essenciais.

Relativamente à percepção de imagem/efeito após do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol podemos concluir que:

- Os participantes que utilizaram o elixir com óleos essenciais referiram ter um melhor hálito, e esta opinião foi diferente, de forma estatisticamente significativa, da opinião dos participantes que utilizaram o colutório à base de delmopinol.

- Os participantes que utilizaram o elixir com óleos essenciais e o colutório com delmopinol indicaram que os produtos eram de fácil utilização, não existindo diferenças estatisticamente significativas entre eles.

No estudo do consumo de alimentos com potencial cariogénico observou-se que os alimentos de maior frequência de consumo são o pão, os

cereais e os refrigerantes e os de menor frequência de consumo os bolos e bolachas, rebuçados e cereais.

Os resultados deste trabalho deixam em aberto possibilidade de se realizar um estudo mais aprofundado sobre as atitudes da população portuguesa perante os produtos de higiene oral, assim como sobre os seus conhecimentos dos mesmos produtos e percepção da sua utilização integrada no âmbito da literacia em saúde.

*Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas
Bactérias da Placa Bacteriana*

Capítulo IV - Considerações Finais

O objectivo geral deste trabalho de doutoramento consistiu na avaliação e comparação da eficácia de um elixir contendo óleos essenciais e de um colutório à base de delmopinol em bactérias da placa bacteriana, nomeadamente *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus*, bactérias aeróbias e anaeróbias.

Após a realização dos Ensaio Clínicos, Estudos Laboratoriais e Estudo Descritivo é possível realizar algumas considerações que permitem dar respostas ao objectivo geral do trabalho.

Ambos os produtos, o elixir com óleos essenciais e o colutório à base de delmopinol, mostraram possuir propriedades antibacterianas ao inibirem o crescimento bacteriano, de forma igual à clorhexidina, de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* e bactérias anaeróbias. Tendo, no entanto, o colutório à base de delmopinol obtido resultados estatisticamente inferiores aos do elixir com óleos essenciais e de clorhexidina na inibição de crescimento de bactérias aeróbias. A sua eficácia sobre *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus*, bactérias aeróbias e anaeróbias da placa bacteriana foi demonstrada pelo facto de provocar uma diminuição das suas contagens de CFU após a utilização por um período de duas semanas.

Foram obtidos resultados positivos em parâmetros clínicos de redução de inflamação gengival, hemorragia gengival e de acumulação de placa bacteriana. O elixir com óleos essenciais mostrou melhores resultados na redução da acumulação de placa bacteriana nos espaços interproximais do que o fio dentário. Apesar de se ter atingido nestes resultados a significância estatística, a sua magnitude não indica significância clínica, pois a análise dos dados de ensaios clínicos deve ser sempre ponderada para os verdadeiros resultados práticos dos valores obtidos. Os valores de redução nas variáveis analisadas pelos índices utilizados não representam ganhos clínicos para os pacientes.

O uso do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol como complemento aos hábitos mecânicos de remoção de placa

bacteriana em adultos saudáveis por um período de duas semanas após uma consulta de higiene oral não apresenta mais-valias clínicas relevantes.

A indicação do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol deve considerar os seguintes aspectos:

- O elixir com óleos essenciais e o colutório à base de delmopinol são eficazes no controlo de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* e bactérias aeróbias e anaeróbias da placa bacteriana.

- A utilização do elixir com óleos essenciais e do colutório à base de delmopinol reduz a inflamação gengival e a acumulação de placa bacteriana mas não de forma a apresentar significância clínica, no entanto são meios eficazes como auxiliares no controlo da gengivite e da acumulação da placa bacteriana para pacientes com higiene oral mecânica deficiente.

- O uso de um elixir com óleos essenciais deve ser indicado para os pacientes que têm dificuldade na realização regular e eficaz do fio dentário.

- O elixir com óleos essenciais é mais bem recebido pelos pacientes, sendo referido como tendo um sabor mais agradável e proporcionar um hálito fresco, tendo como vantagem em relação ao colutório à base de delmopinol, o facto de apresentar um preço de mercado cerca de três vezes inferior o que favorece a sua escolha pelos consumidores como produto de uso diário por períodos de tempo prolongados.

Este trabalho de doutoramento apresenta limitações que impedem a generalização dos resultados para a população em geral. Essas limitações provêm principalmente de factores relacionados com a selecção dos indivíduos para a participação nos estudos realizados. O facto de serem pacientes, ou alunos da Faculdade de Medicina Dentária recomenda prudência na extrapolação destes resultados para a população em geral e, também, o facto de não estarem representados indivíduos nos diversos estádios de doenças orais, nomeadamente de cárie dentária e doença periodontal.

Para o desenvolvimento de estudos futuros seria importante a inclusão de indivíduos com características orais mais dispersas no espectro da saúde oral e com diferenças comportamentais e de conhecimentos de higiene oral.

O estudo de outros microrganismos da flora oral poderá ser também incluído em estudos futuros de modo a alargar o conhecimento do efeito de um elixir com óleos essenciais e de um colutório à base de delmopinol sobre outras bactérias da placa bacteriana, nomeadamente as que habitualmente estão associados à periodontite.

*Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas
Bactérias da Placa Bacteriana*

Bibliografia

*Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas
Bactérias da Placa Bacteriana*

- Abbott DM, Gunsolley JC, Koertge TE, Payne EL. The relative efficacy of 0.1% and 0.2% delmopinol mouthrinses in inhibiting the development of supragingival dental plaque and gingivitis in man. *J Periodontol* 1994; 65(5): 437-41.
- Abrahamsson KH, Koch G, Norderyd O, Romao C, Wennstrom JL. Periodontal conditions in a Swedish city population of adolescents: a cross-sectional study. *Swed Dent J* 2006; 30(1): 25-34.
- ADA (1997). Acceptance Program Guidelines - Adjunctive Dental Therapies for the Reduction of Plaque and Gingivitis.
- ADA (1999). Acceptance program Guidelines - Determination of Efficacy in Product Evaluation.
- ADA (2003). Acceptance Program Guidelines - Dental Floss and other Interdental Cleaners.
- ADA (2006). Acceptance Program Guidelines - Dental Floss or Other Interdental Cleaners.
- ADA (2007). Acceptance Program Guidelines - Clinical Trial Protocols.
- ADA (2008). Acceptance Program Guidelines - Chemotherapeutic products for Control of Gengivitis.
- Addy M. Antiseptics in Periodontal Therapy. Clinical Periodontology and Implant Dentistry. T. K. N. P. L. Editors. Copenhagen, Munksgaard: 461-487 1998.
- Addy M, Moran J, Newcombe RG. Meta-analyses of studies of 0.2% delmopinol mouth rinse as an adjunct to gingival health and plaque control measures. *J Clin Periodontol* 2007; 34(1): 58-65.
- Almeida CM, Emílio MC, Moller I, Marthaler T. 1º Inquérito nacional explorador da prevalência das doenças e necessidades de tratamento na cavidade oral - 2º parte. *Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial* 1990a; 31(4): 215-230.
- Almeida CM, Emílio MC, Moller I, Marthaler T. 1º Inquérito nacional explorador de prevalência das doenças e necessiaddes de tratamento na cavidade oral. *Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial* 1990b; 31(3): 137-149.
- Almeida CM, Petersen PE, Jesus S, Toscano A. O III Inquérito continental explorador (1999): Saúde oral dentária nos jovens de 6 e 13 anos de Portugal continental. *Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial* 2003; 44(4): 205-218.
- Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM. Caries inhibiting and remineralizing effect of xylitol in vitro. *J Oral Sci* 1999; 41(2): 71-6.

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

- American Academy of Periodontology. Epidemiology of periodontal disease. *Journal of Periodontology* 2005; 76: 1406 - 19.
- Amerongen AV, Veerman EC. Saliva-the defender of the oral cavity. *Oral Dis* 2002; 8(1): 12-22.
- Anderson M. Risk assessment and epidemiology of dental caries: review of the literature. *Pediatr Dent* 2002; 24(5): 377-85.
- Andrews JM. Determination of minimum inhibitory concentrations. *J Antimicrob Chemother* 2001; 48 Suppl 1: 5-16.
- Axelsson P. Diagnosis and risk prediction of dental caries. Chicago, Quintessence Pub. Co. 2000.
- Axelsson P. Diagnosis and risk prediction of periodontal diseases. Chicago, Quintessence Pub. Co. 2002.
- Axelsson P. Preventive materials, methods, and programs. Chicago, Quintessence Pub. 2004.
- Baehni PC, Takeuchi Y. Anti-plaque agents in the prevention of biofilm-associated oral diseases. *Oral Dis* 2003; 9 Suppl 1: 23-9.
- Barnett ML. The rationale for the daily use of an antimicrobial mouthrinse. *J Am Dent Assoc* 2006; 137 Suppl: 16S-21S.
- Bauroth K, Charles CH, Mankodi SM, Simmons K, Zhao Q, Kumar LD. The efficacy of an essential oil antiseptic mouthrinse vs. dental floss in controlling interproximal gingivitis: a comparative study. *J Am Dent Assoc* 2003; 134(3): 359-65.
- Beals D, Ngo T, Feng Y, Cook D, Grau DG, Weber DA. Development and laboratory evaluation of a new toothbrush with a novel brush head design. *Am J Dent* 2000; 13(Spec No): 5A-14A.
- Beighton D. The complex oral microflora of high-risk individuals and groups and its role in the caries process. *Community Dent Oral Epidemiol* 2005; 33(4): 248-55.
- Bernimoulin JP. Recent concepts in plaque formation. *J Clin Periodontol* 2003; 30 Suppl 5: 7-9.
- Blanck M, Mankodi S, Wesley P, Tasket R, Nelson B. Evaluation of the plaque removal efficacy of two commercially available dental floss devices. *J Clin Dent* 2007; 18(1): 1-6.

- Bleil SI. O padrão alimentar ocidental: considerações sobre a mudança de hábitos no Brasil. *Caderno de Debates. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação da UNICAMP* 1998; VI: 1-25.
- Bodet C, Chandad F, Grenier D. Porphyromonas gingivalis-induced inflammatory mediator profile in an ex vivo human whole blood model. *Clin Exp Immunol* 2006; 143(1): 50-7.
- Bolanowski SJ, Gescheider GA, Sutton SV. Relationship between oral pain and ethanol concentration in mouthrinses. *J Periodontal Res* 1995b; 30(3): 192-97.
- Borrell LN, Papapanou PN. Analytical epidemiology of periodontitis. *J Clin Periodontol* 2005; 32 Suppl 6: 132-58.
- Bouchard P, Boutouyrie P, Mattout C, Bourgeois D. Risk assessment for severe clinical attachment loss in an adult population. *J Periodontol* 2006; 77(3): 479-89.
- Bowden GH, Li YH. Nutritional influences on biofilm development. *Adv Dent Res* 1997; 11(1): 81-99.
- Bowden V. Dental caries: is it an extinct disease? *Journal of the American Dental Association* 1991; 122(10): 49-52.
- Bradshaw DJ, Marsh PD, Hodgson RJ, Visser JM. Effects of glucose and fluoride on competition and metabolism within in vitro dental bacterial communities and biofilms. *Caries Res* 2002; 36(2): 81-6.
- Burgemeister S, Decker EM, Weiger R, Brex M. Bactericidal effect of delmopinol on attached and planktonic Streptococcus sanguinis cells. *Eur J Oral Sci* 2001; 109(6): 425-7.
- Bussac G. Periodontal disease: Part II--Treatment strategies. *Pract Periodontics Aesthet Dent* 1999; 11(2): 216-8, 220, 222 passim.
- Caufield PW, Li Y, Dasanayake A, Saxena D. Diversity of lactobacilli in the oral cavities of young women with dental caries. *Caries Res* 2007; 41(1): 2-8.
- Charles CH, Mostler KM, Bartels LL, Mankodi SM. Comparative antiplaque and antigingivitis effectiveness of a chlorhexidine and an essential oil mouthrinse: 6-month clinical trial. *J Clin Periodontol* 2004; 31(10): 878-84.
- Charles CH, Pan PC, Sturdivant L, Vincent JW. In vivo antimicrobial activity of an essential oil-containing mouthrinse on interproximal plaque bacteria. *J Clin Dent* 2000; 11(4): 94-7.

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

- Charles CH, Sharma NC, Galustians HJ, Qaqish J, McGuire JA, Vincent JW. Comparative efficacy of an antiseptic mouthrinse and an antiplaque/antigingivitis dentifrice. A six-month clinical trial. *J Am Dent Assoc* 2001; 132(5): 670-5.
- Ciancio S. Improving oral health: current considerations. *J Clin Periodontol* 2003; 30 Suppl 5: 4-6.
- Ciancio SG. Current status of indices of gingivitis. *J Clin Periodontol* 1986; 13(5): 375-8, 381-2.
- Ciancio SG. Nonsurgical chemical periodontal therapy. *Periodontol 2000* 1995; 9: 27-37.
- Claydon N, Hunter L, Moran J, Wade W, Kelty E, Mover R, Addy M. A 6-month home-usage trial of 0.1% and 0.2% delmopinol mouthwashes (I). Effects on plaque, gingivitis, supragingival calculus and tooth staining. *J Clin Periodontol* 1996; 23(3 Pt 1): 220-8.
- Cole P, Rodu B, Mathisen A. Alcohol-containing mouthwash and oropharyngeal cancer: a review of the epidemiology. *J Am Dent Assoc* 2003; 134(8): 1079-87.
- Collaert B, Attstrom R, De Bruyn H, Mover R. The effect of delmopinol rinsing on dental plaque formation and gingivitis healing. *J Clin Periodontol* 1992a; 19(4): 274-80.
- Collaert B, Attstrom R, Edwardsson S, Hase JC, Astrom M, Mover R. Short-term effect of topical application of delmopinol on salivary microbiology, plaque, and gingivitis. *Scand J Dent Res* 1994; 102(1): 17-23.
- Collaert B, Edwardsson S, Attstrom R, Hase JC, Astrom M, Mover R. Rinsing with delmopinol 0.2% and chlorhexidine 0.2%: short-term effect on salivary microbiology, plaque, and gingivitis. *J Periodontol* 1992b; 63(7): 618-25.
- Davey ME, O'Toole G, A. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiol Mol Biol Rev* 2000; 64(4): 847-67.
- Day RL, Coe RL, Kendal JR, Laland KN. Neophilia, innovation and social learning: a study of intergeneric differences in callitrichid monkeys. *Animal Behaviour* 2003; 65(3): 559-571.
- de Almeida CM, Petersen PE, Andre SJ, Toscano A. Changing oral health status of 6- and 12-year-old schoolchildren in Portugal. *Community Dent Health* 2003; 20(4): 211-6.

- de Almeida PdV, Gregio AM, Machado MA, de Lima AA, Azevedo LR. Saliva composition and functions: a comprehensive review. *J Contemp Dent Pract* 2008; 9(3): 72-80.
- DECO . Teste da saúde Nº 56 Crianças e Televisão. Proteste 2005 (255): 8-12.
- DePaola LG, Overholser CD, Meiller TF, Minah GE, Niehaus C. Chemotherapeutic inhibition of supragingival dental plaque and gingivitis development. *J Clin Periodontol* 1989; 16(5): 311-5.
- DGS (2008). Estudo Nacional de Prevalência das Doenças Orais. Lisboa.
- Donlan RM. Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerg Infect Dis* 2002; 8(9): 881-90.
- Dunny GM, Brickman TJ, Dworkin M. Multicellular behavior in bacteria: communication, cooperation, competition and cheating. *Bioessays* 2008; 30(4): 296-8.
- Edgar WM. Saliva: its secretion, composition and functions. *Br Dent J* 1992; 172(8): 305-12.
- Eley BM. Antibacterial agents in the control of supragingival plaque--a review. *Br Dent J* 1999; 186(6): 286-96.
- Ellen RP, Fillery ED, Banting DW. Comparison of selective broth and plating methods for isolation of Streptococcus mutans from root surface dental plaques. *J Clin Microbiol* 1980; 11(3): 205-8.
- El-Qaderi SS, Quteish Ta'ani D. Assessment of periodontal knowledge and periodontal status of an adult population in Jordan. *Int J Dent Hyg* 2004; 2(3): 132-6.
- Eriksson B, Ottersgard Brorsson AK, Hallstrom G, Sjodin T, Gunnarsson PO. Pharmacokinetics of 14C-delamopinol in the healthy male volunteer. *Xenobiotica* 1998; 28(11): 1075-81.
- Fass RJ, Prior RB, Rotilie CA. Simplified method for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 1975; 8(4): 444-52.
- FDA. Oral health care drug products for over the counter human use; antigingivitis/antiplaque drug products; establishment of a monograph; proposed rules. *Federal register* 2003; 68(103): 32232 - 32287.
- Featherstone JD. The science and practice of caries prevention. *J Am Dent Assoc* 2000; 131(7): 887-99.

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

- Filoche SK, Soma K, Sissons CH. Antimicrobial effects of essential oils in combination with chlorhexidine digluconate. *Oral Microbiol Immunol* 2005; 20(4): 221-5.
- Fine DH, Furgang D, Barnett ML. Comparative antimicrobial activities of antiseptic mouthrinses against isogenic planktonic and biofilm forms of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Clin Periodontol* 2001; 28(7): 697-700.
- Fine DH, Furgang D, Barnett ML, Drew C, Steinberg L, Charles CH, Vincent JW. Effect of an essential oil-containing antiseptic mouthrinse on plaque and salivary *Streptococcus mutans* levels. *J Clin Periodontol* 2000; 27(3): 157-61.
- Fine DH, Markowitz K, Furgang D, Goldsmith D, Charles CH, Lisante TA, Lynch MC. Effect of an essential oil-containing antimicrobial mouthrinse on specific plaque bacteria in vivo. *J Clin Periodontol* 2007a; 34(8): 652-7.
- Fine DH, Markowitz K, Furgang D, Goldsmith D, Ricci-Nittel D, Charles CH, Peng P, Lynch MC. Effect of rinsing with an essential oil-containing mouthrinse on subgingival periodontopathogens. *J Periodontol* 2007b; 78(10): 1935-42.
- Fischman SL. Current status of indices of plaque. *J Clin Periodontol* 1986; 13(5): 371-4, 379-80.
- Flight I, Leppard P, Cox DN. Food neophobia and associations with cultural diversity and socio-economic status amongst rural and urban Australian adolescents. *Appetite* 2003; 41(1): 51-9.
- Frank RA, Kalisewicz S. Food experience and willingness to try novel foods. *Appetite* 2000; 34(3): 335.
- Freitas-Fernandes LB, Rundegren J, Arnebrant T, Glantz PO. Characterization of the binding of delmopinol to salivary precipitates. *Braz Dent J* 2001; 12(3): 173-7.
- Garcia-Godoy F, Hicks MJ. Maintaining the integrity of the enamel surface: the role of dental biofilm, saliva and preventive agents in enamel demineralization and remineralization. *J Am Dent Assoc* 2008; 139 Suppl: 25S-34S.
- Giertsen E, Emberland H, Scheie AA. Effects of mouth rinses with xylitol and fluoride on dental plaque and saliva. *Caries Res* 1999; 33(1): 23-31.
- Gilbert P, Moore LE. Cationic antiseptics: diversity of action under a common epithet. *J Appl Microbiol* 2005; 99(4): 703-15.
- Gomez RS, Dutra WO, Moreira PR. Epigenetics and periodontal disease: future perspectives. *Inflamm Res* 2009; 58(10): 625-9.

- Goodson JM, Palys MD, Carpino E, Regan EO, Sweeney M, Socransky SS. Microbiological changes associated with dental prophylaxis. *J Am Dent Assoc* 2004; 135(11): 1559-64; quiz 1622-3.
- Gordon JM, Lamster IB, Seiger MC. Efficacy of Listerine antiseptic in inhibiting the development of plaque and gingivitis. *J Clin Periodontol* 1985; 12(8): 697-704.
- Gradwohl RBH, Frankel S, Reitman S, Sonnenwirth AC. Clinical laboratory methods and diagnosis; a textbook on laboratory procedures and their interpretation. Saint Louis,, Mosby 1970.
- Grossman E, A.H. M, Isaacs RL, Ferretti GA, Sturzenberger OP, Bollmer BW, Moore DJ, Lijana RC, Manhart MD. A clinical comparison of antibacterial mouthrinses: effects of chlorhexidine, phenolics, and sanguinarine on dental plaque and gingivitis. *Journal of Periodontology* 1989; 60(8): 435-40.
- Haffajee AD, Teles RP, Socransky SS. The effect of periodontal therapy on the composition of the subgingival microbiota. *Periodontol 2000* 2006; 42: 219-58.
- Hartroth B, Seyfahrt I, Conrads G. Sampling of periodontal pathogens by paper points: evaluation of basic parameters. *Oral Microbiol Immunol* 1999; 14(5): 326-30.
- Hase JC, Attstrom R, Edwardsson S, Kelty E, Kisch J. 6-month use of 0.2% delmopinol hydrochloride in comparison with 0.2% chlorhexidine digluconate and placebo. (I). Effect on plaque formation and gingivitis. *J Clin Periodontol* 1998a; 25(9): 746-53.
- Hase JC, Edwardsson S, Rundegren J, Attstrom R, Kelty E. 6-month use of 0.2% delmopinol hydrochloride in comparison with 0.2% chlorhexidine digluconate and placebo (II). Effect on plaque and salivary microflora. *J Clin Periodontol* 1998b; 25(11 Pt 1): 841-9.
- Hase JC, Soder PO, Soder B, Kulstad S, Kelty E. Development of plaque and gingivitis after mouthrinsing with 0.2% delmopinol hydrochloride. *Eur J Oral Sci* 1995; 103(3): 172-8.
- Heynderickx I, Engel J. Statistical methods for testing plaque removal efficacy in clinical trials. *J Clin Periodontol* 2005; 32(6): 677-83.
- Hildebrandt GH, Sparks BS. Maintaining mutans streptococci suppression with xylitol chewing gum. *J Am Dent Assoc* 2000; 131(7): 909-16.
- Hoover CI, Newbrun E. Survival of bacteria from human dental plaque under various transport conditions. *J Clin Microbiol* 1977; 6(3): 212-8.

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

- Hope CK, Wilson M. Biofilm structure and cell vitality in a laboratory model of subgingival plaque. *J Microbiol Methods* 2006; 66(3): 390-8.
- Hughes P. An adjunct to mechanical plaque removal. *Dimensions of Dental Hygiene* 2006; 4(4): 32-34.
- Hujoel PP, Cunha-Cruz J, Banting DW, Loesche WJ. Dental flossing and interproximal caries: a systematic review. *J Dent Res* 2006; 85(4): 298-305.
- INE, Ed. 1999. Balança Alimentar Portuguesa. Série estudos nº 79. Lisboa.
- Islam B, Khan SN, Khan AU. Dental caries: from infection to prevention. *Med Sci Monit* 2007; 13(11): RA196-203.
- Ismail AI, Hasson H, Sohn W. Dental caries in the second millennium. *J Dent Educ* 2001; 65(10): 953-9.
- Jenkinson HF, Lamont RJ. Oral microbial communities in sickness and in health. *Trends Microbiol* 2005; 13(12): 589-95.
- Kalsbeek H, Truin GJ, Poorterman JH, van Rossum GM, van Rijkom HM, Verrips GH. Trends in periodontal status and oral hygiene habits in Dutch adults between 1983 and 1995. *Community Dent Oral Epidemiol* 2000; 28(2): 112-8.
- Karsaklian E. Comportamento do consumidor. São Paulo, Editora Atlas 2004.
- Kato T, Iijima H, Ishihara K, Kaneko T, Hirai K, Naito Y, Okuda K. Antibacterial effects of Listerine on oral bacteria. *Bull Tokyo Dent Coll* 1990; 31(4): 301-7.
- Kinane DF, Hart TC. Genes and gene polymorphisms associated with periodontal disease. *Crit Rev Oral Biol Med* 2003; 14(6): 430-49.
- Klinge B, Matsson L, Attstrom R, Edwardsson S, Sjodin T. Effect of local application of delmopinol hydrochloride on developing and early established supragingival plaque in humans. *J Clin Periodontol* 1996; 23(6): 543-7.
- Kolenbrander PE. Oral microbial communities: biofilms, interactions, and genetic systems. *Annu Rev Microbiol* 2000; 54: 413-37.
- Kolenbrander PE, Ganeshkumar N, Cassels FJ, Hughes CV. Coaggregation: specific adherence among human oral plaque bacteria. *Faseb J* 1993; 7(5): 406-13.
- Kolenbrander PE, Palmer RJ, Jr., Rickard AH, Jakubovics NS, Chalmers NI, Diaz PI. Bacterial interactions and successions during plaque development. *Periodontol 2000* 2006; 42: 47-79.
- Kuramitsu HK, He X, Lux R, Anderson MH, Shi W. Interspecies interactions within oral microbial communities. *Microbiol Mol Biol Rev* 2007; 71(4): 653-70.

- Lang NP, Hase JC, Grassi M, Hammerle CH, Weigel C, Kelty E, Frutig F. Plaque formation and gingivitis after supervised mouthrinsing with 0.2% delmopinol hydrochloride, 0.2% chlorhexidine digluconate and placebo for 6 months. *Oral Dis* 1998; 4(2): 105-13.
- Lappalainen R, Kearney J, Gibney M. A PAN EU survey of consumer attitudes to food, nutrition and health: an overview. *Food quality and Preference* 1998; 9(6): 467-478.
- Liljemark WF, Bloomquist CG, Reilly BE, Bernards CJ, Townsend DW, Pennock AT, LeMoine JL. Growth dynamics in a natural biofilm and its impact on oral disease management. *Adv Dent Res* 1997; 11(1): 14-23.
- Lindhe J, Karring T, Lang NP. Clinical periodontology and implant dentistry. Oxford, UK ; Malden, MA, Blackwell 2003.
- Lobene RR, Weatherford T, Ross NM, Lamm RA, Menaker L. A modified gingival index for use in clinical trials. *Clin Prev Dent* 1986; 8(1): 3-6.
- Loesche WJ. Role of Streptococcus mutans in human dental decay. *Microbiol Rev* 1986; 50(4): 353-80.
- Loewen R, Pliner P. Effects of prior exposure to palatable and unpalatable novel foods on children's willingness to taste other novel foods. *Appetite* 1999; 32(3): 351-66.
- Loureiro I. A importância da educação alimentar: o papel das Escolas Promotoras de Saúde. *Revista Portuguesa de Saúde Pública* 2004; 22(2): 43-55.
- Luís LS, Osório MN, Ribeiro S, Neves EM, Luís HS. Xilitol e flúor na prevenção da cárie dentária. *Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial* 2001; 42(1): 35-38.
- Lynch RJ, Mony U, Ten Cate JM. The effect of fluoride at plaque fluid concentrations on enamel de- and remineralisation at low pH. *Caries Res* 2006; 40(6): 522-9.
- Mandel ID. Antimicrobial mouthrinses: overview and update. *J Am Dent Assoc* 1994; 125 Suppl 2: 2S-10S.
- Marinho VC. Evidence-based effectiveness of topical fluorides. *Adv Dent Res* 2008; 20(1): 3-7.
- Marques MD, Teixeira-Pinto A, da Costa-Pereira A, Eriksen HM. Prevalence and determinants of periodontal disease in Portuguese adults: results from a multifactorial approach. *Acta Odontol Scand* 2000; 58(5): 201-6.
- Marsh PD. The role of microbiology in models of dental caries. *Adv Dent Res* 1995; 9(3): 244-54; discussion 255-69.

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

- Marsh PD. Are dental diseases examples of ecological catastrophes? *Microbiology* 2003; 149(Pt 2): 279-94.
- Marsh PD, Bradshaw DJ. Physiological approaches to the control of oral biofilms. *Adv Dent Res* 1997; 11(1): 176-85.
- Maxwell S, Kover A. Negative affect: The dark side of retailing. *Journal of Business Research* 2003; 56: 553-559.
- McCoy LC, Wehler CJ, Rich SE, Garcia RI, Miller DR, Jones JA. Adverse events associated with chlorhexidine use: results from the Department of Veterans Affairs Dental Diabetes Study. *J Am Dent Assoc* 2008; 139(2): 178-83.
- Minah GE, DePaola LG, Overholser CD, Meiller TF, Niehaus C, Lamm RA, Ross NM, Dills SS. Effects of 6 months use of an antiseptic mouthrinse on supragingival dental plaque microflora. *J Clin Periodontol* 1989; 16(6): 347-52.
- Moran JM. Home-use oral hygiene products: mouthrinses. *Periodontol 2000* 2008; 48: 42-53.
- Morris AJ, Steele J, White DA. The oral cleanliness and periodontal health of UK adults in 1998. *Br Dent J* 2001; 191(4): 186-92.
- Muller G, Welter R. Medidas ipsativas na avaliação psicológica. *Avaliação Psicológica* 2007; 6(2): 157-165.
- NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Wayne, NCCLS 2003.
- Neves EM, Graça MM, Luís SL, Osório MN, Ribeiro S, Luís HS. Cárie dentária: Acção das bactérias acidogénicas e a sua inibição pelo xilitol. *Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial* 2001; 42(2): 75-78.
- Newsome PR, Wright GH. A review of patient satisfaction: 1. Concepts of satisfaction. *Br Dent J* 1999a; 186(4 Spec No): 161-5.
- Newsome PR, Wright GH. A review of patient satisfaction: 2. Dental patient satisfaction: an appraisal of recent literature. *Br Dent J* 1999b; 186(4 Spec No): 166-70.
- Oliver RC, Brown LJ, Loe H. Periodontal diseases in the United States population. *J Periodontol* 1998; 69(2): 269-78.
- Olympio KP, Bardal PA, Cardoso VE, Oliveira RC, Bastos JR, Buzalaf MA. Low-fluoride dentifrices with reduced pH: fluoride concentration in whole saliva and bioavailability. *Caries Res* 2007; 41(5): 365-70.

- Osório MN, Luís HS, Ribeiro S, Luís LS, Neves EM. Saliva e saúde oral. *Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial* 2000; 41(4): 195-198.
- O'Sullivan DM, Thibodeau EA. Caries experience and mutans streptococci as indicators of caries incidence. *Pediatr Dent* 1996; 18(5): 371-4.
- Ouhayoun JP. Penetrating the plaque biofilm: impact of essential oil mouthwash. *J Clin Periodontol* 2003; 30 Suppl 5: 10-2.
- Overholser CD, Meiller TF, DePaola LG, Minah GE, Niehaus C. Comparative effects of 2 chemotherapeutic mouthrinses on the development of supragingival dental plaque and gingivitis. *J Clin Periodontol* 1990; 17(8): 575-9.
- Paes Leme AF, Koo H, Bellato CM, Bedi G, Cury JA. The role of sucrose in cariogenic dental biofilm formation--new insight. *J Dent Res* 2006; 85(10): 878-87.
- Pallant J. SPSS survival manual : a step by step guide to data analysis using SPSS for Windows (version 12). Maidenhead, Berkshire. U.K. ; New York, NY, Open University Press 2005.
- Pan P, Barnett ML, Coelho J, Brogdon C, Finnegan MB. Determination of the in situ bactericidal activity of an essential oil mouthrinse using a vital stain method. *J Clin Periodontol* 2000; 27(4): 256-61.
- Paraskevas S. Randomized controlled clinical trials on agents used for chemical plaque control. *Int J Dent Hyg* 2005; 3(4): 162-78.
- Paraskevas S, Rosema NA, Versteeg P, Timmerman MF, van der Velden U, van der Weijden GA. The additional effect of a dentifrice on the instant efficacy of toothbrushing: a crossover study. *J Periodontol* 2007; 78(6): 1011-6.
- Pearce E. Plaque minerals and dental caries. *N Z Dent J* 1998; 94(415): 12-5.
- Peláez MAC, Gómez GCE, Ruiz EFR, Lapiedra RC. Colutorios con alcohol y su relación con el cáncer oral. Análisis crítico de la literatura. *Medicina e Patología Oral* 2004; 9: 116-123.
- Petersilka GJ, Ehmke B, Flemmig TF. Antimicrobial effects of mechanical debridement. *Periodontol 2000* 2002; 28: 56-71.
- Petersson GH, Bratthall D. Caries risk assessment: a comparison between the computer program 'Cariogram', dental hygienists and dentists. *Swed Dent J* 2000; 24(4): 129-37.

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

- Petersson LG, Lodding A, Hakeberg M, Koch G. Fluorine profiles in human enamel after in vitro treatment with dentifrices of different compositions and acidities. *Swed Dent J* 1989; 13(5): 177-83.
- Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. *Lancet* 2005; 366(9499): 1809-20.
- Pihlstrom BL, Tabak L. The National Institute of Dental and Craniofacial Research: research for the practicing dentist. *J Am Dent Assoc* 2005; 136(6): 728-37.
- Podbielski A, Kreikemeyer B. Cell density--dependent regulation: basic principles and effects on the virulence of Gram-positive cocci. *Int J Infect Dis* 2004; 8(2): 81-95.
- Quirynen M, Bollen CM. The influence of surface roughness and surface-free energy on supra- and subgingival plaque formation in man. A review of the literature. *J Clin Periodontol* 1995; 22(1): 1-14.
- Quirynen M, Teughels W, De Soete M, van Steenberghe D. Topical antiseptics and antibiotics in the initial therapy of chronic adult periodontitis: microbiological aspects. *Periodontol 2000* 2002; 28: 72-90.
- Raudenbush B, Schroth F, Reilley S, Frank RA. Food neophobia, odor evaluation and exploratory sniffing behavior. *Appetite* 1998; 31(2): 171-83.
- Reeks BY, Champlin FR, Paulsen DB, Scruggs DW, Lawrence ML. Effects of sub-minimum inhibitory concentration antibiotic levels and temperature on growth kinetics and outer membrane protein expression in *Mannheimia haemolytica* and *Haemophilus somnus*. *Can J Vet Res* 2005; 69(1): 1-10.
- Ribeiro LG, Hashizume LN, Maltz M. The effect of different formulations of chlorhexidine in reducing levels of mutans streptococci in the oral cavity: A systematic review of the literature. *J Dent* 2007; 35(5): 359-70.
- Riep BG, Bernimoulin JP, Barnett ML. Comparative antiplaque effectiveness of an essential oil and an amine fluoride/stannous fluoride mouthrinse. *J Clin Periodontol* 1999; 26(3): 164-8.
- Rodriguez-Martinez JM, Pascual A. [Activity of antimicrobial agents on bacterial biofilms]. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2008; 26(2): 107-14.
- Rundegren J, Simonsson T, Petersson L, Hansson E. Effect of delmopinol on the cohesion of glucan-containing plaque formed by *Streptococcus mutans* in a flow cell system. *J Dent Res* 1992; 71(11): 1792-6.
- Santos A. Evidence-based control of plaque and gingivitis. *J Clin Periodontol* 2003; 30 Suppl 5: 13-6.

- Saxton CA, van der Ouderaa FJ. The effect of a dentifrice containing zinc citrate and Triclosan on developing gingivitis. *J Periodontal Res* 1989; 24(1): 75-80.
- Sbordone L, Bortolaia C. Oral microbial biofilms and plaque-related diseases: microbial communities and their role in the shift from oral health to disease. *Clin Oral Investig* 2003; 7(4): 181-8.
- Sekino S, Ramberg P. The effect of a mouth rinse containing phenolic compounds on plaque formation and developing gingivitis. *J Clin Periodontol* 2005; 32(10): 1083-8.
- Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. *Lancet* 2007; 369(9555): 51-9.
- Sgan-Cohen HD. Oral hygiene: past history and future recommendations. *Int J Dent Hyg* 2005; 3(2): 54-8.
- Shapira L, Wilensky A, Kinane DF. Effect of genetic variability on the inflammatory response to periodontal infection. *J Clin Periodontol* 2005; 32 Suppl 6: 72-86.
- Shapiro S, Castellana JV, Sprafka JM. Alcohol-containing mouthwashes and oropharyngeal cancer: a spurious association due to underascertainment of confounders? *Am J Epidemiol* 1996; 144(12): 1091-5.
- Sharma N, Charles CH, Lynch MC, Qaqish J, McGuire JA, Galustians JG, Kumar LD. Adjunctive benefit of an essential oil-containing mouthrinse in reducing plaque and gingivitis in patients who brush and floss regularly: a six-month study. *J Am Dent Assoc* 2004; 135(4): 496-504.
- Sharma NC, Charles CH, Qaqish JG, Galustians HJ, Zhao Q, Kumar LD. Comparative effectiveness of an essential oil mouthrinse and dental floss in controlling interproximal gingivitis and plaque. *Am J Dent* 2002; 15(6): 351-5.
- Silverman S, Jr., Wilder R. Antimicrobial mouthrinse as part of a comprehensive oral care regimen. Safety and compliance factors. *J Am Dent Assoc* 2006; 137 Suppl: 22S-26S.
- Slots J, Jorgensen MG. Effective, safe, practical and affordable periodontal antimicrobial therapy: where are we going, and are we there yet? *Periodontol 2000* 2002; 28: 298-312.
- Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol 2000* 2002; 28: 12-55.
- Spratt DA, Pratten J. Biofilms and the oral cavity. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 2003; 2: 109-120.
- Sreenivasan P, Gaffar A. Antiplaque biocides and bacterial resistance: a review. *J Clin Periodontol* 2002; 29(11): 965-74.

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

- Sreenivasan PK, Gittins E. The effects of a chlorhexidine mouthrinse on culturable microorganisms of the tongue and saliva. *Microbiol Res* 2004; 159(4): 365-70.
- Sripriya N, Shaik Hyder Ali KH. A comparative study of the efficacy of four different bristle designs of tooth brushes in plaque removal. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2007; 25(2): 76-81.
- Steinberg D, Beeman D, Bowen WH. Interactions of delmopinol with constituents of experimental pellicle. *J Dent Res* 1992; 71(11): 1797-802.
- Stoeken JE, Paraskevas S, van der Weijden GA. The effect of a mouthrinse containing essential oils on dental plaque and gingivitis. *Journal of Periodontology* 2007a; 78: 1218-1228.
- Stoeken JE, Paraskevas S, van der Weijden GA. The long-term effect of a mouthrinse containing essential oils on dental plaque and gingivitis: a systematic review. *J Periodontol* 2007b; 78(7): 1218-28.
- Stookey GK, Beiswanger B, Mau M, Isaacs RL, Witt JJ, Gibb R. A 6-month clinical study assessing the safety and efficacy of two cetylpyridinium chloride mouthrinses. *Am J Dent* 2005; 18 Spec No: 24A-28A.
- Streckfus CF, Bigler LR. Saliva as a diagnostic fluid. *Oral Dis* 2002; 8(2): 69-76.
- Takashiba S, Naruishi K. Gene polymorphisms in periodontal health and disease. *Periodontol 2000* 2006; 40: 94-106.
- Tanzer JM, Livingston J, Thompson AM. The microbiology of primary dental caries in humans. *J Dent Educ* 2001; 65(10): 1028-37.
- ten Cate JM. Biofilms, a new approach to the microbiology of dental plaque. *Odontology* 2006; 94(1): 1-9.
- ten Cate JM. The need for antibacterial approaches to improve caries control. *Adv Dent Res* 2009; 21(1): 8-12.
- Terezhalmay GT, Bartizek RD, Biesbrock AR. Plaque-removal efficacy of four types of dental floss. *J Periodontol* 2008; 79(2): 245-51.
- Thomas JG, Nakaishi LA. Managing the complexity of a dynamic biofilm. *J Am Dent Assoc* 2006; 137 Suppl: 10S-15S.
- Tiwari BK, Valdramidis VP, O'Donnell CP, Muthukumarappan K, Bourke P, Cullen PJ. Application of natural antimicrobials for food preservation. *J Agric Food Chem* 2009; 57(14): 5987-6000.
- Tolker-Nielsen T, Molin S. Spatial Organization of Microbial Biofilm Communities. *Microb Ecol* 2000; 40(2): 75-84.

- Tufekci E, Casagrande ZA, Lindauer SJ, Fowler CE, Williams KT. Effectiveness of an essential oil mouthrinse in improving oral health in orthodontic patients. *Angle Orthod* 2008; 78(2): 294-8.
- Tuorila H, Meiselman HL, Bell R, Cardello AV, Johnson W. Role of sensory and cognitive information in the enhancement of certainty and liking for novel and familiar foods. *Appetite* 1994; 23(3): 231-46.
- Vagstrand KE, Birkhed D. Cariogenic bacteria as biomarkers for sugar intake. *Nutr Rev* 2007; 65(3): 111-21.
- van den Broek AM, Feenstra L, de Baat C. A review of the current literature on management of halitosis. *Oral Dis* 2008; 14(1): 30-9.
- van der Mei HC, White DJ, Atema-Smit J, van de Belt-Gritter E, Busscher HJ. A method to study sustained antimicrobial activity of rinse and dentifrice components on biofilm viability in vivo. *J Clin Periodontol* 2006; 33(1): 14-20.
- van der Weijden GA, Hioe KP. A systematic review of the effectiveness of self-performed mechanical plaque removal in adults with gingivitis using a manual toothbrush. *J Clin Periodontol* 2005; 32 Suppl 6: 214-28.
- van Houte J. Microbiological predictors of caries risk. *Adv Dent Res* 1993; 7(2): 87-96.
- Van Loveren C. Antimicrobial activity of fluoride and its in vivo importance: identification of research questions. *Caries Res* 2001; 35 Suppl 1: 65-70.
- Van Strydonck DA, Timmerman MF, van der Velden U, van der Weijden GA. Plaque inhibition of two commercially available chlorhexidine mouthrinses. *J Clin Periodontol* 2005; 32(3): 305-9.
- WHO (2008). Oral Hygiene Indexes: consultado a 28 de Dezembro de 2009 em <http://www.whocollab.od.mah.se/expl/ohiintro.html>
- Wiebe CB, Putnins EE. The periodontal disease classification system of the American Academy of Periodontology--an update. *J Can Dent Assoc* 2000; 66(11): 594-7.
- Wilkins EM. Clinical practice of the dental hygienist. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins 2005.
- Wilkins EM. Clinical practice of the dental hygienist. Philadelphia, Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins 2009.
- Wilson M. Susceptibility of oral bacterial biofilms to antimicrobial agents. *J Med Microbiol* 1996; 44(2): 79-87.

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

- Wu CD, Savitt ED. Evaluation of the safety and efficacy of over-the-counter oral hygiene products for the reduction and control of plaque and gingivitis. *Periodontol 2000* 2002; 28: 91-105.
- Zee K, Rundegren J, Attstrom R. Effect of delmopinol hydrochloride mouthrinse on plaque formation and gingivitis in "rapid" and "slow" plaque formers. *J Clin Periodontol* 1997; 24(7): 486-91.
- Zero DT, Zhang JZ, Harper DS, Wu M, Kelly S, Waskow J, Hoffman M. The remineralizing effect of an essential oil fluoride mouthrinse in an intraoral caries test. *J Am Dent Assoc* 2004; 135(2): 231-7.
- Zhang JZ, Harper DS, Vogel GL, Schumacher G. Effect of an essential oil mouthrinse, with and without fluoride, on plaque metabolic acid production and pH after a sucrose challenge. *Caries Res* 2004; 38(6): 537-41.
- Zimmer S, Kolbe C, Kaiser G, Krage T, Ommerborn M, Barthel C. Clinical efficacy of flossing versus use of antimicrobial rinses. *J Periodontol* 2006; 77(8): 1380-5.

Apêndice 1
Consentimentos Informados

*Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas
Bactérias da Placa Bacteriana*



UNIVERSIDADE DE LISBOA

FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA

**Estudo *in vitro* do efeito de dois elixires orais
no biofilme bacteriano supra e sub gengival**

CONSENTIMENTO DE PARTICIPAÇÃO

Investigadores:

Mestre Henrique Soares Luís - Higienista Oral, Assistente da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa - Curso de Higienistas Orais

Telefone: 217922678; Fax: 217937501

Professor Doutor Mário Filipe Bernardo – Médico Dentista, Professor Associado da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa

Telefone: 217922678; Fax: 217937501

Objectivos e Benefícios:

O objectivo deste estudo, integrado no desenvolvimento de um trabalho para Tese de Doutoramento da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa, consiste em avaliar o efeito de dois elixires orais, um contendo Óleos Essenciais e outro contendo Delmopinol na sua composição, no biofilme bacteriano da cavidade oral. Após a colheita de amostras da placa bacteriana existente na boca, estas serão cultivadas em meios adequados que contêm os elixires em estudo de forma a avaliar a sua influência sobre o crescimento e desenvolvimento bacteriano.

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

Procedimentos:

Vamos solicitar-lhe que realize a seguinte actividade durante o período de estudo:

Autorize a colheita de amostra de placa bacteriana supra gengival com a utilização de um cotonete que será esfregado contra os dentes e colocado em meio de transporte para envio ao laboratório e colheita de amostra de placa bacteriana sub gengival utilizando pontas de papel absorvente. Este procedimento não provoca dores.

Riscos e Aspectos de Desagradáveis:

Este estudo não apresenta qualquer risco ou aspecto desagradável para os participantes.

Informações Adicionais:

As conclusões do estudo serão apresentadas por escrito na tese de Doutoramento e em artigos científicos, mas a identificação dos participantes não será divulgada. A sua identificação nunca será revelada, este estudo é anónimo.

Pode colocar as questões que pretender sempre que quiser. Pode mesmo mudar de ideia e desistir de participar, tudo o que tem que fazer é comunicar aos investigadores.

Assinatura do Investigador

Data

Declaração do Participante

O estudo descrito acima foi-me explicado e eu concordo em participar nesta actividade. Foi-me dada a oportunidade de colocar questões, se mudar de ideias quanto a participar no estudo sei que posso desistir bastando para isso informar qualquer das pessoas relacionadas com este trabalho.

Assinatura do Participante

Data



UNIVERSIDADE DE LISBOA

FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA

Estudo do efeito de dois elixires, *Listerine* e *Decapinol*, no biofilme oral do sulco gengival.

CONSENTIMENTO DE PARTICIPAÇÃO

Investigadores:

Mestre Henrique Soares Luís - Higienista Oral, Assistente da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa - Curso de Higienistas Oraís

Telefone: 217922678; Fax: 217937501

Professor Doutor Mário Filipe Bernardo – Médico Dentista, Professor Associado da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa

Telefone: 217922678; Fax: 217937501

Objectivos e Benefícios:

O objectivo deste estudo, integrado no desenvolvimento de um trabalho para Tese de Doutoramento da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa, consiste em avaliar o efeito de dois elixires orais, um contendo Óleos Essenciais e outro contendo Delmopinol na sua composição, como auxiliar de higiene oral e sua actuação no biofilme bacteriano do sulco gengival observando a sua capacidade de penetração e alteração da flora oral. Poderá ou não receber um elixir para utilizar.

Se concordar em participar neste estudo receberá, de forma gratuita, uma consulta de Higiene Oral (a segunda consulta) na Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa (F.M.D.U.L.), assim como material de higiene oral.

Procedimentos:

Vamos solicitar-lhe que execute as seguintes actividades durante o período de estudo:

- Na primeira consulta de higiene oral nas instalações da F.M.D.U.L. serão efectuados os seguintes procedimentos:
 - a. Confirmação da ausência de bolsas periodontais.
 - b. Colheita de amostras de placa do sulco gengival, utilizando pontas de papel absorvente. Este procedimento não provoca dores.
 - c. Realização de índice de quantidade de Placa bacteriana (Turesky e tal. 1970) e de Gengivite (Loe & Silness, 1963). Estes índices são utilizados de forma rotineira em actividades de Higiene Oral e não são experimentais. O índice de Turesky, é realizado pela observação visual da acumulação de placa bacteriana na superfície dentária e não é um método doloroso. O índice de Gengivite é realizado em todos os dentes presentes utilizando um instrumento chamado “sonda periodontal”, que é colocado ao longo do sulco gengival (espaço natural existente entre o dente e a gengiva) para avaliar o estado de saúde da gengiva, este procedimento pode causar alguma sensação de pressão na gengiva, não sendo, geralmente, doloroso.
 - d. Caso seja o caso, receberá um bochecho para utilização diária, a selecção do bochecho a utilizar por si será feita ao acaso.
- Realize diariamente, de acordo com as indicações que lhe serão fornecidas, o bochecho com o elixir que lhe foi entregue, por um período de duas semanas.
- Uma semana após esta primeira consulta será efectuada nova visita à consulta de Higiene Oral da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa, onde serão repetidos os procedimentos b. e c. referidos anteriormente. Será também feita a recolha do elixir que tenha sobrado da utilização, e a remoção de depósitos moles e duros das estruturas dentárias (destartarização).

Riscos e Aspectos de Desagradáveis:

Os elixires poderão ter um sabor forte e dar a sensação de “queimadura” aquando da sua utilização. Podem também causar uma sensação de anestesia na língua, alterações passageiras do gosto e secura bucal após as primeiras utilizações. Estes produtos não são experimentais e existem à venda no mercado estando devidamente aprovados e regulamentados para uso como auxiliares de Higiene Oral.

Informações Adicionais:

As conclusões do estudo serão apresentadas por escrito na tese de Doutoramento e em artigos científicos, mas a identificação dos participantes não será divulgada. A sua identificação nunca será revelada, este estudo é anónimo.

Pode colocar as questões que pretender sempre que quiser. Pode mesmo mudar de ideia e desistir de participar, tudo o que tem que fazer é comunicar aos investigadores.

Assinatura do Investigador

Data

Declaração do Participante

O estudo descrito acima foi-me explicado e eu concordo em participar nesta actividade. Foi-me dada a oportunidade de colocar questões, se mudar de ideias quanto a participar no estudo sei que posso desistir bastando para isso informar qualquer das pessoas relacionadas com este trabalho.

Assinatura do Participante

Data

*Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas
Bactérias da Placa Bacteriana*



UNIVERSIDADE DE LISBOA

FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA

Ensaio clínico do efeito de dois elixires orais, *Listerine* e *Decapinol*, na acumulação do biofilme supra gengival e na gengivite, após bochecho diário por um período de duas semanas.

CONSENTIMENTO DE PARTICIPAÇÃO

Investigadores:

Mestre Henrique Soares Luís - Higienista Oral, Assistente da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa - Curso de Higienistas Orais

Telefone: 217922678; Fax: 217937501

Professor Doutor Mário Filipe Bernardo – Médico Dentista, Professor Associado da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa

Telefone: 217922678; Fax: 217937501

Objectivos e Benefícios:

O objectivo deste estudo, integrado no desenvolvimento de um trabalho para Tese de Doutoramento da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa, consiste em avaliar o efeito de dois elixires orais, um contendo Óleos Essenciais e outro contendo Delmopinol na sua composição, como auxiliar de higiene oral e sua actuação no biofilme bacteriano da cavidade oral e na gengivite. Poderá ou não receber um elixir para utilizar.

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

Se concordar em participar neste estudo receberá, de forma gratuita, uma consulta de Higiene Oral (a segunda consulta) na Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa (F.M.D.U.L.), assim como material de higiene oral.

Procedimentos:

Vamos solicitar-lhe que execute as seguintes actividades durante o período de estudo:

- Na primeira consulta de higiene oral nas instalações da F.M.D.U.L. serão efectuados os seguintes procedimentos:
 - a. Colheita de amostras de placa bacteriana supra gengival com a utilização de um cotonete que será esfregado contra os dentes e colocado em meio de transporte para envio ao laboratório. Este procedimento não provoca dores.
 - b. Realização de índice de quantidade de Placa bacteriana (Turesky e tal. 1970) e de Gengivite (Loe & Silness, 1963). Estes índices são utilizados de forma rotineira em actividades de Higiene Oral e não são experimentais. O índice de Turesky, é realizado pela observação visual da acumulação de placa bacteriana na superfície dentária e não é um método doloroso. O índice de Gengivite é realizado em todos os dentes presentes utilizando um instrumento chamado “sonda periodontal”, que é colocado ao longo do sulco gengival (espaço natural existente entre o dente e a gengiva) para avaliar o estado de saúde da gengiva, este procedimento pode causar alguma sensação de pressão na gengiva, não sendo, geralmente, doloroso.
 - c. Caso seja a sua situação, receberá um bochecho para utilização diária, a selecção do bochecho a utilizar por si será feita ao acaso.
- Realize diariamente, de acordo com as indicações que lhe serão fornecidas, o bochecho com o elixir que lhe foi entregue, por um período de duas semanas.

- No final das 2 semanas de duração do estudo será efectuada nova consulta gratuita de higiene oral nas instalações da F.M.D.U.L., onde serão efectuados os seguintes procedimentos:
 - a. Colheita de amostras de placa bacteriana supra gengival com a utilização de um cotonete que será esfregado contra os dentes e colocado em meio de transporte para envio ao laboratório. Este procedimento não provoca dores.
 - b. Realização de índice de quantidade de Placa bacteriana (Turesky et al. 1970) e de Gengivite (Loe & Silness, 1963). Estes índices são utilizados de forma rotineira em actividades de Higiene Oral e não são experimentais, sendo desenvolvidos do mesmo modo da primeira consulta.
 - c. Recolha do elixir que sobra da utilização durante o período de duas semanas.
 - d. Remoção de depósitos moles e/ou duros das estruturas dentárias (destartarização e polimento de coroas)

Riscos e Aspectos de Desagradáveis:

Os elixires poderão ter um sabor forte e dar a sensação de “queimadura” aquando da sua utilização. Podem também causar uma sensação de anestesia na língua, alterações passageiras do gosto e secura bucal após as primeiras utilizações. Estes produtos não são experimentais e existem à venda no mercado estando devidamente aprovados e regulamentados para uso como auxiliares de Higiene Oral.

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

Informações Adicionais:

As conclusões do estudo serão apresentadas por escrito na tese de Doutorado e em artigos científicos, mas a identificação dos participantes não será divulgada. A sua identificação nunca será revelada, este estudo é anónimo.

Pode colocar as questões que pretender sempre que quiser. Pode mesmo mudar de ideia e desistir de participar, tudo o que tem que fazer é comunicar aos investigadores.

Assinatura do Investigador

Data

Declaração do Participante

O estudo descrito acima foi-me explicado e eu concordo em participar nesta actividade. Foi-me dada a oportunidade de colocar questões, se mudar de ideias quanto a participar no estudo sei que posso desistir bastando para isso informar qualquer das pessoas relacionadas com este trabalho.

Assinatura do Participante

Data



UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA

Ensaio clínico do efeito de dois elixires orais, *Listerine* e *Decapinol*, na acumulação do biofilme no espaço interproximal e sulco gengival interproximal, após bochecho diário por um período de duas semanas.

CONSENTIMENTO DE PARTICIPAÇÃO

Investigadores:

Mestre Henrique Soares Luís - Higienista Oral, Assistente da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa - Curso de Higienistas Orais

Telefone: 217922678; Fax: 217937501

Professor Doutor Mário Filipe Bernardo – Médico Dentista, Professor Associado da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa

Telefone: 217922678; Fax: 217937501

Objectivos e Benefícios:

O objectivo deste estudo, integrado no desenvolvimento de um trabalho para Tese de Doutoramento da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa, consiste em avaliar o efeito de dois elixires orais, um contendo Óleos Essenciais, outro contendo Delmopinol na sua composição, no biofilme bacteriano do espaço interproximal (espaço existente entre dois dentes adjacentes) e sulco gengival interproximal (espaço natural existente entre a gengiva e o dente).

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

Se concordar em participar neste estudo receberá, de forma gratuita, consultas de Higiene Oral na Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa (F.M.D.U.L.), assim como material de higiene oral gratuito.

Procedimentos:

Vamos solicitar-lhe que execute as seguintes actividades durante o período de estudo, que durará 4 meses e exige um total de sete (7) deslocações à Clínica de Higiene Oral da Faculdade de Medicina Dentária:

- Realize uma primeira visita à clínica de higiene oral nas instalações da F.M.D.U.L. onde será efectuado um ensino de escovagem e entregue, de forma gratuita, uma escova de dentes e um dentífrico fluoretado.
- Uma semana após esta primeira visita, realiza-se uma primeira consulta na Clínica de Higiene Oral onde serão obtidos os seguintes registos:
 - a. Colheita de amostras de placa bacteriana do sulco gengival (espaço natural existente entre o dente e gengiva) com a utilização de uma cureta esterilizada, sendo a amostra colocada em meio de transporte para envio ao laboratório. Este procedimento não provoca dores.
 - b. Realização de índice de quantidade de Placa bacteriana (Turesky e tal. 1970) e de Gengivite (Loe & Silness, 1963). Estes índices são utilizados de forma rotineira em actividades de Higiene Oral e não são experimentais. O índice de Turesky, é realizado pela observação visual da acumulação de placa bacteriana na superfície dentária e não é um método doloroso. O índice de Gengivite é realizado em todos os dentes presentes utilizando um instrumento chamado “sonda periodontal”, que é colocado ao longo do sulco gengival (espaço natural existente entre o dente e a gengiva) para avaliar o estado de saúde da gengiva, este procedimento pode causar alguma sensação de pressão na gengiva, não sendo, geralmente, doloroso.

- c. Após a sua integração no estudo, e se for o caso, ser-lhe-á entregue um bochecho para utilização diária, a selecção do bochecho a utilizar por si será feita ao acaso, não sendo do seu conhecimento nem do seu Higienista Oral qual a sua composição.
- Realize duas vezes por dia, durante trinta (30) segundos de cada vez, o bochecho com o elixir que lhe foi entregue, por um período de duas semanas. Se não lhe for entregue um elixir, deve manter as suas actividades de Higiene Oral normais.
 - No final das 2 semanas de duração do estudo será efectuada nova visita à clínica de Higiene Oral (2ª consulta) nas instalações da F.M.D.U.L., onde serão repetidas as observações referidas em a. e b. da primeira consulta e recolhido o bochecho que tenha sobrado, ou caso não tenha recebido um elixir, serão somente efectuados os procedimentos referidos.
 - Um mês após esta visita, voltará à clínica de higiene oral (3ª Consulta) para repetição dos procedimentos da primeira consulta, sendo-lhe fornecido um elixir oral de composição diferente do primeiro, ou indicado um período de repouso.
 - Deve realizar diariamente, durante um (1) minuto, o bochecho com o novo elixir que lhe foi entregue, por um período de duas semanas, ou efectuar a sua higiene oral normal sem a utilização de um elixir.
 - No final das 2 semanas de duração do estudo será efectuada nova visita à clínica de Higiene Oral (4ª Consulta) nas instalações da F.M.D.U.L., onde serão repetidas as observações referidas em a. e b. da primeira consulta e recolhido o bochecho que tenha sobrado, ou caso não tenha recebido um elixir, serão somente efectuados os procedimentos referidos.
 - Um mês após esta visita, voltará à clínica de higiene oral (5ª Consulta) para repetição dos procedimentos da primeira consulta.
 - No final de mais 2 semanas de duração do estudo será efectuada uma última visita à clínica de Higiene Oral (6ª Consulta) nas instalações da F.M.D.U.L., onde serão repetidas as observações referidas em a. e b. da primeira consulta e recolhido o bochecho que tenha sobrado.

Termina assim a sua participação neste trabalho de investigação.

Riscos e Aspectos de Desagradáveis:

Os elixires poderão ter um sabor forte e dar a sensação de “queimadura” aquando da sua utilização. Podem também causar uma sensação de anestesia na língua, alterações passageiras do gosto e secura bucal após as primeiras utilizações. Estes produtos não são experimentais e existem à venda no mercado estando devidamente aprovados e regulamentados para uso como auxiliares de Higiene Oral.

Informações Adicionais:

As conclusões do estudo serão apresentadas por escrito na tese de Doutoramento e em artigos científicos, mas a identificação dos participantes não será divulgada. A sua identificação nunca será revelada, este estudo é anónimo.

Pode colocar as questões que pretender sempre que quiser. Pode mesmo mudar de ideia e desistir de participar, tudo o que tem que fazer é comunicar aos investigadores.

Assinatura do Investigador

Data

Declaração do Participante

O estudo descrito acima foi-me explicado e eu concordo em participar nesta actividade. Foi-me dada a oportunidade de colocar questões, se mudar de ideias quanto a participar no estudo sei que posso desistir bastando para isso informar qualquer das pessoas relacionadas com este trabalho.

Assinatura do Participante

Data

Apêndice 2

Folhas de registo dos dados

*Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas
Bactérias da Placa Bacteriana*

Estudo do Efeito de Elixires Oraís no Biofilme Oral

Nome: _____ Proc. FMD Nº _____ IDNO _____

Data de nascimento: ____/____/____ Sexo: _____ Telf: _____

Tratamento: _____ Quadrante Swab _____ Quadrante Sub Geng. _____

C: _____ P: _____ O: _____ ; Total: _____ Antibiótico (- de 3 meses): NÃO ☐

Índice Gengival (Löe & Silness, 1963)

	17	21	27	37	41	47
	16	11	26	36	31	46
M						
V						
D						
L						

	17	21	27	37	41	47
	16	11	26	36	31	46
M						
V						
D						
L						

Data: ____/____/____

Data: ____/____/____

0 = Gengiva saudável; 1 = Pequena alteração de cor, sem hemorragia à sondagem

2 = Gengiva vermelha e edemaciada, com hemorragia à sondagem

3 = Gengiva vermelha, edemaciada e ulcerada. Hemorragia espontânea.

Índice de Quigley Hein Turesky

DATA	DENTES	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
	Vestibular														
	Lingual														
	Vestibular														
	Lingual														
DATA	DENTES	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37
	Vestibular														
	Lingual														
	Vestibular														
	Lingual														



0 = Sem placa bacteriana

1 = Placa pontual na zona cervical

2 = Banda fina contínua de placa, até 1mm, na margem cervical

3 = Banda maior do que 1 mm, mas menos que 1/3 da

*Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas
Bactérias da Placa Bacteriana*

Ensaio Clínico de Comparação entre um Elixir Oral e Fio Dentário no Biofilme Oral e Gengivite

Nome: _____ Proc. FMD N° _____ IDNO _____

Data de nascimento: ____/____/____ Sexo: _____ Telf: _____

Tratamento: __ C: __ P: __ O: __; Total: __ Antibiótico (- de 3 meses): NÃO ☐

Índice Gengival Modificado (Lobene et al. 1986)

Data 1: ____/____/____

	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
M														
V														
D														
L														
	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37
M														
V														
D														
L														

Data 2: ____/____/____

	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
M														
V														
D														
L														
	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37
M														
V														
D														
L														

0 = Ausência de inflamação; 1 = Inflamação ligeira, Pequena alteração de cor ou textura; 2 = Inflamação ligeira em toda a área da gengiva; 3 = Inflamação moderada, edema e cor alterada moderada; 4 = Inflamação severa, edema e cor severa, hemorragia espontânea e ulceração

*Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas
Bactérias da Placa Bacteriana*

**Índice de Hemorragia
(Saxton, Ouderaa, 1989)**

	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
____/____/____														
DV														
V														
L														
ML														
	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37
____/____/____														
DV														
V														
L														
ML														

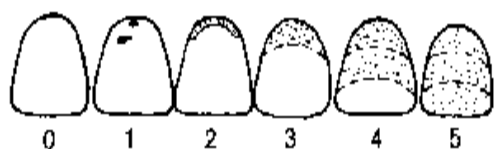
0 - Sem hemorragia após 30 segundos

1 - Hemorragia após 30 segundos

2- Hemorragia imediata

Índice de Quigley Hein Turesky

DATA	DENTES	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
___/___/___	DV														
	V														
	MV														
	DL														
	L														
	ML														
	DV														
	V														
	MV														
	DL														
	L														
	ML														
DATA	DENTES	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37
___/___/___	DV														
	V														
	MV														
	DL														
	L														
	ML														
	DV														
	V														
	MV														
	DL														
	L														
	ML														



- 0 = Sem placa bacteriana
 1 = Placa pontual na zona cervical
 2 = Banda fina contínua de placa, até 1mm, na margem cervical
 3 = Banda maior do que 1 mm, mas menos que 1/3 da

*Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas
Bactérias da Placa Bacteriana*

Apêndice 3

Questionário do estudo descritivo

*Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas
Bactérias da Placa Bacteriana*

QUESTIONÁRIO SOBRE O USO DE ELIXIRES ORAIS E HÁBITOS ALIMENTARES

Este questionário tem como objectivo a melhor compreensão das atitudes das pessoas em relação ao uso de elixires orais e o consumo de alimentos.

Instruções Gerais

- Responda a cada pergunta da melhor forma que souber, uma resposta aproximada é melhor do que não responder!
- Não há respostas certas ou erradas, o que conta é a sua opinião!
- Todas as respostas serão confidenciais.

Muito obrigado pela sua colaboração.

Primeira parte

IDNO: _____

Coloque um **X** na caixa em frente à sua resposta, se quiser alterar a sua resposta, risque e volte a colocar o **X** na resposta que quer dar.

1. Sexo:

a) Masculino	
b) Feminino	

2. Idade:

a) 15 – 17	
b) 18 – 24	
c) 25 – 34	
d) 35 – 44	
e) 45 – 54	
f) 55 – 64	
g) 65 – 74	
h) 75 ou mais	

3. Escolaridade:

a) Primária	
b) 5º ao 9º ano	
c) 10 ao 12º	
d) Superior	
e) Nenhuma	

4. Qual a sua primeira reacção perante um elixir oral que nunca provou?

a) Curiosidade	
b) Indiferença	
c) Desconfiança	
d) Rejeição	
e) Compro imediatamente	

5. Tem o hábito de experimentar alimentos diferentes do habitual (por exemplo comidas ou restaurantes exóticos)

a) Sim	
b) Não	

6. Utilizou o elixir todos os dias conforme recomendado

a) Sim	
b) Não	

Se não, quantos dias falhou?: _____

Segunda parte

Uso do Elixir Oral

Responda cada pergunta marcando com um X a quadrícula que melhor representa a sua opinião. (Marque somente uma quadrícula por pergunta).

Até que ponto concorda ou discorda com cada uma das seguintes afirmações:		Concordo totalmente			Não concordo nem discordo			Discordo totalmente
7	Para mim a informação sobre o elixir oral é de grande importância. Preciso saber o que o produto contém.	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	<input type="checkbox"/> ₇
8	O elixir que utilizei tinha um sabor agradável	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	<input type="checkbox"/> ₇
9	Senti mudanças positivas na minha saúde oral ao usar este elixir.	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	<input type="checkbox"/> ₇
10	Foi difícil usar regularmente o elixir oral, devido ao seu sabor	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	<input type="checkbox"/> ₇
11	Foi difícil usar regularmente o elixir oral, devido ao gosto que deixa na boca	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	<input type="checkbox"/> ₇
12	Foi difícil usar regularmente o elixir oral, devido à sua frequência de utilização (2x ao dia)	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	<input type="checkbox"/> ₇
13	Foi difícil usar regularmente o elixir oral, devido a “queimar” durante a utilização	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	<input type="checkbox"/> ₇
14	Foi difícil usar regularmente o elixir oral, devido a me deixar “anestesiado”	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	<input type="checkbox"/> ₇
15	O uso regular do bochecho provou alterações de paladar – a comida não sabia ao mesmo.	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	<input type="checkbox"/> ₇

*Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas
Bactérias da Placa Bacteriana*

Até que ponto concorda ou discorda com cada uma das seguintes afirmações:		Concordo totalmente			Não concordo nem discordo			Discordo totalmente
16	O uso regular do bochecho fez com que os meus dentes ficassem manchados.	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	<input type="checkbox"/> ₇
17	O uso regular do bochecho fez-me sentir com melhor hálito.	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	<input type="checkbox"/> ₇
18	Tenciono continuar a utilizar este elixir	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	<input type="checkbox"/> ₇

Terceira parte
Hábitos Alimentares / Consumo de Alimentos

Alimentos	Nunca ou menos de 1 vez por mês	1 a 3 vezes por mês	1 vez por semana	2 a 4 vezes por semana	Mais de 5 vezes por semana	1 vez por dia	2 a 3 vezes por dia	4 a 5 vezes por dia	Mais de 6 vezes por dia
19. Bolos e bolachas	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	<input type="checkbox"/> ₇	<input type="checkbox"/> ₈	<input type="checkbox"/> ₉
20. Refrigerantes	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	<input type="checkbox"/> ₇	<input type="checkbox"/> ₈	<input type="checkbox"/> ₉
21. Rebuçados	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	<input type="checkbox"/> ₇	<input type="checkbox"/> ₈	<input type="checkbox"/> ₉
22. Chocolates	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	<input type="checkbox"/> ₇	<input type="checkbox"/> ₈	<input type="checkbox"/> ₉
23. Compotas	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	<input type="checkbox"/> ₇	<input type="checkbox"/> ₈	<input type="checkbox"/> ₉
24. Pão	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	<input type="checkbox"/> ₇	<input type="checkbox"/> ₈	<input type="checkbox"/> ₉
25. Cereais de peq-almoço	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	<input type="checkbox"/> ₇	<input type="checkbox"/> ₈	<input type="checkbox"/> ₉

Já concluiu o seu questionário!

**CERTIFIQUE-SE QUE RESPONDEU A TODAS AS PERGUNTAS E, MAIS
UMA VEZ, MUITO OBRIGADO PELA SUA COLABORAÇÃO**

Apêndice 4

Outputs do programa SPSS da análise de dados

*Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas
Bactérias da Placa Bacteriana*

Estudo Laboratorial II

Avaliação da eficácia dos produtos em teste na inibição de crescimento de colónias de *Streptococcus mutans*, de *Lactobacillus*, de bactérias aeróbias e de bactérias anaeróbias.

Para *Streptococcus mutans*:

Descriptives

halo

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
CHX	17	1.488	.4484	.1088	1.258	1.719	1.1	2.7
Listerine	16	1.450	.4803	.1201	1.194	1.706	.6	2.7
Decapinol	15	1.500	.4914	.1269	1.228	1.772	.6	2.6
Total	48	1.479	.4631	.0668	1.345	1.614	.6	2.7

Test of Homogeneity of Variances

halo

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.012	2	45	.988

ANOVA

halo

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.022	2	.011	.048	.953
Within Groups	10.058	45	.224		
Total	10.079	47			

Para *Lactobacillus*:

Descriptives

halo

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
CHX	23	2.291	.5984	.1248	2.033	2.550	1.0	3.0
Listerine	21	2.114	.6901	.1506	1.800	2.428	.7	3.2
Decapinol	21	2.100	.6804	.1485	1.790	2.410	.5	3.2
Total	65	2.172	.6516	.0808	2.011	2.334	.5	3.2

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

Test of Homogeneity of Variances

halo

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.234	2	62	.792

ANOVA

halo

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.506	2	.253	.588	.559
Within Groups	26.664	62	.430		
Total	27.170	64			

Para bactérias aeróbias:

Ranks

	tratamento experimental	N	Mean Rank
dimensão do halo	CHX	21	23.69
	Listerine	9	30.00
	decapinol	14	15.89
	Total	44	

Test Statistics(a,b)

	dimensão do halo
Chi-Square	7.123
Df	2
Asymp. Sig.	.028

a Kruskal Wallis Test

b Grouping Variable: tratamento experimental

Para bactérias anaeróbias:

Ranks

	tratamento experimental	N	Mean Rank
dimensão do halo	CHX	23	27.09
	Listerine	9	34.72
	decapinol	19	20.55
	Total	51	

Test Statistics(a,b)

	dimensão do halo
Chi-Square	5.872
df	2
Asymp. Sig.	.053

a Kruskal Wallis Test

b Grouping Variable: tratamento experimental

Comparações de tratamentos para bactérias aeróbias

Clorohexidina vs. Óleos essenciais:

Ranks

	tratamento	N	Mean Rank	Sum of Ranks
halo	CHX	21	13.83	290.50
	Listerine	9	19.39	174.50
	Total	30		

Test Statistics(b)

	halo
Mann-Whitney U	59.500
Wilcoxon W	290.500
Z	-1.629
Asymp. Sig. (2-tailed)	.103
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.114(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: tratamento

Clorohexidina vs. Delmopinol:

Ranks

	tratamento	N	Mean Rank	Sum of Ranks
halo	CHX	21	20.86	438.00
	decapinol	14	13.71	192.00
	Total	35		

Test Statistics(b)

	halo
Mann-Whitney U	87.000
Wilcoxon W	192.000
Z	-2.041
Asymp. Sig. (2-tailed)	.041
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.044(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: tratamento

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

Óleos essenciais vs. Delmopinol

Ranks

	tratamento	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Halo	Listerine	9	15.61	140.50
	decapinol	14	9.68	135.50
	Total	23		

Test Statistics(b)

	halo
Mann-Whitney U	30.500
Wilcoxon W	135.500
Z	-2.069
Asymp. Sig. (2-tailed)	.039
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.039(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: tratamento

Avaliação de inibição de crescimento bacteriano de *Streptococcus mutans*, de *Lactobacillus*, de bactérias aeróbias e de bactérias anaeróbias de uma solução hidro-alcoólica de concentração igual à existente no elixir com óleos essenciais e no colutório à base de delmopinol.

Concentração alcoólica vs. Elixir -Para *Streptococcus mutans*:

Group Statistics

	tratamento	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Halo	Listerine	16	1.450	.4803	.1201
	21.5%	13	1.392	.5649	.1567

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
halo	Equal variances assumed	.089	.768	.297	27	.768	.0577	.1940	-.3404	.4558
	Equal variances not assumed			.292	23.696	.773	.0577	.1974	-.3500	.4654

Concentração alcoólica vs. Elixir -Para *Lactobacillus*:

Group Statistics

tratamento		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
halo	Listerine	21	2.114	.6901	.1506
	21.5%	18	1.628	.6201	.1462

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
halo	Equal variances assumed	.205	.653	2.299	37	.027	.4865	.2116	.0577	.9153
	Equal variances not assumed			2.318	36.903	.026	.4865	.2099	.0613	.9118

Concentração alcoólica vs. Elixir -Para Bactérias aeróbio:

Ranks

tratamento experimental		N	Mean Rank	Sum of Ranks
dimensão do halo	Listerine	9	13.78	124.00
	21,5%	17	13.35	227.00
	Total	26		

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

Test Statistics^b

	dimensão do halo
Mann-Whitney U	74.000
Wilcoxon W	227.000
Z	-.139
Asymp. Sig. (2-tailed)	.890
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.916 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: tratamento experimental

Concentração alcoólica vs. Elixir -Para Bactérias anaeróbio:

Ranks

tratamento experimental	N	Mean Rank	Sum of Ranks
dimensão do halo Listerine	9	14.50	130.50
21,5%	14	10.39	145.50
Total	23		

Test Statistics^b

	dimensão do halo
Mann-Whitney U	40.500
Wilcoxon W	145.500
Z	-1.451
Asymp. Sig. (2-tailed)	.147
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.159 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: tratamento experimental

Concentração alcoólica vs. Colutório -Para *Streptococcus mutans*:

Group Statistics

tratamento	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
halo Decapinol	15	1.500	.4914	.1269
1.5%	6	1.017	.1329	.0543

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
halo	Equal variances assumed	2.774	.112	2.342	19	.030	.4833	.2064	.0514	.9153
	Equal variances not assumed			3.503	17.912	.003	.4833	.1380	.1933	.7733

Concentração alcoólica vs. Colutório -Para *Lactobacillus*:

Group Statistics

tratamento		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
halo	Decapinol	21	2.100	.6804	.1485
	1.5%	6	1.150	.1643	.0671

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
halo	Equal variances assumed	5.216	.031	3.348	25	.003	.9500	.2838	.3656	1.5344
	Equal variances not assumed			5.831	24.856	.000	.9500	.1629	.6143	1.2857

Concentração alcoólica vs. Colutório -Para bactérias aeróbias:

Ranks

tratamento experimental		N	Mean Rank	Sum of Ranks
dimensão do halo	decapinol	14	10.36	145.00
	1,5%	5	9.00	45.00
	Total	19		

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

Test Statistics^b

	dimensão do halo
Mann-Whitney U	30.000
Wilcoxon W	45.000
Z	-.466
Asymp. Sig. (2-tailed)	.641
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.687 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: tratamento experimental

Concentração alcoólica vs. Colutório -Para bactérias anaeróbias:

Ranks

tratamento experimental	N	Mean Rank	Sum of Ranks
dimensão do halo decapinol	19	13.87	263.50
1,5%	5	7.30	36.50
Total	24		

Test Statistics(b)

	dimensão do halo
Mann-Whitney U	21.500
Wilcoxon W	36.500
Z	-1.855
Asymp. Sig. (2-tailed)	.064
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.063(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: tratamento experimental

Ensaio Clínico I

Distribuição por género e grupo etário:

sexo

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid masculino	44	48.9	48.9	48.9
feminino	46	51.1	51.1	100.0
Total	90	100.0	100.0	

grupo etário

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid 15-24	30	33.3	33.3	33.3
25-44	46	51.1	51.1	84.4
45-64	12	13.3	13.3	97.8
65+	2	2.2	2.2	100.0
Total	90	100.0	100.0	

CPO

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std.	Skewness		Kurtosis	
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic	Std. Error
dentes cariados	90	0	13	1.38	2.547	2.475	.254	6.386	.503
dentes perdidos	90	0	10	1.60	2.312	1.881	.254	3.317	.503
dentes obturados	90	0	17	3.99	4.088	1.212	.254	1.021	.503
índice cpo	90	0	19	6.98	5.563	.577	.254	-.851	.503
Valid N (listwise)	90								

Componente Laboratorial

Avaliação da eficácia do elixir/colutório na inibição de formação de colónias de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus*, em CFU

Grupo de Controlo

Para *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* supra e subgingival:

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	SMsupraSW1menos1	1.7650	30	1.10533	.20180
	SMsupraSW2menos1	1.5367	30	1.09000	.19901

Paired Samples Test

		Paired Differences							
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	SMsupraSW1menos1 - SMsupraSW2menos1	.22833	1.01715	.18571	-.15148	.60814	1.230	29	.229

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	SMSubSG1menos1	1.8250	30	.90218	.16471
	SMSubSG2menos1	1.3667	30	.83173	.15185

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	SMsubSG1menos1 - SMsubSG2menos1	.45833	.56828	.10375	.24613	.67053	4.418	29	.000

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	LBsupraSW1menos1	.4933	30	.86371	.15769
	LBsupraSW2menos1	.2600	30	.60549	.11055
Pair 2	LBsubSG1menos1	.6533	30	1.00068	.18270
	LBsubSG2menos1	.2100	30	.49869	.09105

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	LBsupraSW1menos1 - LBsupraSW2menos1	.23333	1.15313	.21053	-.19725	.66392	1.108	29	.277
Pair 2	LBsubSG1menos1 - LBsubSG2menos1	.44333	1.04145	.19014	.05445	.83222	2.332	29	.027

Grupo de Óleos Essenciais

Para *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* supra e subgengival:

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	SMsupraSW1menos1 - SMsupraSW2menos1	1.5600	30	1.15471	.21082
	SMsupraSW2menos1	.8933	30	1.04862	.19145
Pair 2	SMsubSG1menos1 - SMsubSG2menos1	1.2600	30	1.04950	.19161
	SMsubSG2menos1	.7033	30	1.00352	.18322
Pair 3	LBsupraSW1menos1 - LBsupraSW2menos1	.4867	30	.89827	.16400
	LBsupraSW2menos1	.1317	30	.41533	.07583
Pair 4	LBsubSG1menos1 - LBsubSG2menos1	.3050	30	.75044	.13701
	LBsubSG2menos1	.1533	30	.44604	.08144

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	SMSupraSW1menos1 - SMsupraSW2menos1	.66667	1.26725	.23137	.19347	1.13987	2.881	29	.007
Pair 2	SMsubSG1menos1 - SMsubSG2menos1	.55667	1.03113	.18826	.17164	.94170	2.957	29	.006
Pair 3	LBsupraSW1menos1 - LBsupraSW2menos1	.35500	.87290	.15937	.02905	.68095	2.228	29	.034
Pair 4	LBsubSG1menos1 - LBsubSG2menos1	.15167	.54921	.10027	-.05341	.35675	1.513	29	.141

Grupo de Delmopinol

Para *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* supra e subgengival:

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	SMsupraSW1menos1	1.8817	30	1.03211	.18844
	SMsupraSW2menos1	.9850	30	1.10930	.20253
Pair 2	SMSubSG1menos1	1.3883	30	1.07741	.19671
	SMSubSG2menos1	.6383	30	.96933	.17697
Pair 3	LBsupraSW1menos1	.8900	30	1.04991	.19169
	LBsupraSW2menos1	.3733	30	.65886	.12029
Pair 4	LBsubSG1menos1	.5850	30	.88777	.16208
	LBsubSG2menos1	.4483	30	.78031	.14246

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	SMsupraSW1menos1 - SMsupraSW2menos1	.89667	1.07004	.19536	.49711	1.29623	4.590	29	.000
Pair 2	SMsubSG1menos1 - SMsubSG2menos1	.75000	.93375	.17048	.40133	1.09867	4.399	29	.000
Pair 3	LBsupraSW1menos1 - LBsupraSW2menos1	.51667	1.11327	.20325	.10097	.93237	2.542	29	.017
Pair 4	LBsubSG1menos1 - LBsubSG2menos1	.13667	.93116	.17001	-.21103	.48437	.804	29	.428

Comparação dos grupos experimentais para dados iniciais

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
SMsupraSW1menos1	standard of care	30	1.7650	1.10533	.20180	1.3523	2.1777	.00	2.80
	Listerine	30	1.5600	1.15471	.21082	1.1288	1.9912	.00	2.80
	decapinol	30	1.8817	1.03211	.18844	1.4963	2.2671	.00	2.80
	Total	90	1.7356	1.09432	.11535	1.5064	1.9648	.00	2.80
SMSubSG1menos1	standard of care	30	1.5200	.99668	.18197	1.1478	1.8922	.00	2.80
	Listerine	30	1.2600	1.04950	.19161	.8681	1.6519	.00	2.80
	decapinol	30	1.3883	1.07741	.19671	.9860	1.7906	.00	2.80
	Total	90	1.3894	1.03548	.10915	1.1726	1.6063	.00	2.80
LBsupraSW1menos1	standard of care	30	.4933	.86371	.15769	.1708	.8158	.00	2.80
	Listerine	30	.4867	.89827	.16400	.1512	.8221	.00	2.80
	decapinol	30	.8900	1.04991	.19169	.4980	1.2820	.00	2.80
	Total	90	.6233	.94928	.10006	.4245	.8222	.00	2.80
LBsubSG1menos1	standard of care	30	.6533	1.00068	.18270	.2797	1.0270	.00	2.80
	Listerine	30	.3050	.75044	.13701	.0248	.5852	.00	2.80
	decapinol	30	.5850	.88777	.16208	.2535	.9165	.00	2.80
	Total	90	.5144	.88857	.09366	.3283	.7006	.00	2.80

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
SMsupraSW1menos1	Between Groups	1.591	2	.796	.659	.520
	Within Groups	104.990	87	1.207		
	Total	106.581	89			
SMsubSG1menos1	Between Groups	1.014	2	.507	.467	.628
	Within Groups	94.413	87	1.085		
	Total	95.427	89			
LBsupraSW1menos1	Between Groups	3.201	2	1.600	1.808	.170
	Within Groups	77.000	87	.885		
	Total	80.201	89			
LBsubSG1menos1	Between Groups	2.044	2	1.022	1.303	.277
	Within Groups	68.227	87	.784		
	Total	70.271	89			

Comparação dos grupos experimentais para dados após período experimental

Descriptives

SMsupraSW2menos1

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
standard of care	30	1.5367	1.09000	.19901	1.1297	1.9437	.00	2.80
Listerine	30	.8933	1.04862	.19145	.5018	1.2849	.00	2.80
decapinol	30	.9850	1.10930	.20253	.5708	1.3992	.00	2.80
Total	90	1.1383	1.10817	.11681	.9062	1.3704	.00	2.80

ANOVA

SMsupraSW2menos1

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7.266	2	3.633	3.098	.050
Within Groups	102.029	87	1.173		
Total	109.295	89			

Descriptives

SMsubSG2menos1

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
standard of care	30	1.3667	.83173	.15185	1.0561	1.6772	.00	2.80
Listerine	30	.7033	1.00352	.18322	.3286	1.0781	.00	2.80
decapinol	30	.6383	.96933	.17697	.2764	1.0003	.00	2.80
Total	90	.9028	.98450	.10378	.6966	1.1090	.00	2.80

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

ANOVA

SMsubSG2menos1

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9.747	2	4.874	5.541	.005
Within Groups	76.515	87	.879		
Total	86.262	89			

Descriptives

LBsupraSW2menos1

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
standard of care	30	.2600	.60549	.11055	.0339	.4861	.00	2.20
Listerine	30	.1317	.41533	.07583	-.0234	.2868	.00	1.70
decapinol	30	.3733	.65886	.12029	.1273	.6194	.00	2.25
Total	90	.2550	.57181	.06027	.1352	.3748	.00	2.25

ANOVA

LBsupraSW2menos1

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.877	2	.439	1.352	.264
Within Groups	28.223	87	.324		
Total	29.100	89			

Descriptives

LBsubSG2menos1

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
standard of care	30	.2100	.49869	.09105	.0238	.3962	.00	2.15
Listerine	30	.1533	.44604	.08144	-.0132	.3199	.00	2.05
decapinol	30	.4483	.78031	.14246	.1570	.7397	.00	2.80
Total	90	.2706	.60065	.06331	.1448	.3964	.00	2.80

ANOVA

LBsubSG2menos1

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.470	2	.735	2.088	.130
Within Groups	30.639	87	.352		
Total	32.109	89			

Avaliação da eficácia do elixir/colutório na inibição de formação de colónias de bactérias aeróbias e anaeróbias, em CFU

Grupo de Controlo

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	PBtotalaerobica SW1menos1	2.5179	14	.59116	.15799
	PBtotalaerobica SW2menos1	2.7036	14	.28586	.07640
Pair 2	PBtotalaerobica SG1menos1	2.4250	14	.71837	.19199
	PBtotalaerobica SG2menos1	2.4214	14	.54903	.14673
Pair 3	PBtotalanaerobica SW1menos1	2.6500	15	.24640	.06362
	PBtotalanaerobica SW2menos1	2.5900	15	.72659	.18760
Pair 4	PBtotalanaerobica SG1menos1	2.5067	15	.48985	.12648
	PBtotalanerobica SG2menos1	2.3833	15	.88432	.22833

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	PBtotalaerobica SW1menos1 - PBtotalaerobica SW2menos1	-.18571	.69984	.18704	-.58979	.21836	-.993	13	.339
Pair 2	PBtotalaerobica SG1menos1 - PBtotalaerobica SG2menos1	.00357	.47331	.12650	-.26971	.27685	.028	13	.978
Pair 3	PBtotalanaerobica SW1menos1 - PBtotalanaerobica SW2menos1	.06000	.81003	.20915	-.38858	.50858	.287	14	.778
Pair 4	PBtotalanaerobica SG1menos1 - PBtotalanerobica SG2menos1	.12333	.68891	.17788	-.25817	.50484	.693	14	.499

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

Grupo de Óleos Essenciais

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	PBtotalaerobica SW1menos1	2.4393	14	.91403	.24429
	PBtotalaerobica SW2menos1	2.3071	14	.82412	.22026
Pair 2	PBtotalaerobica SG1menos1	2.3036	14	.69627	.18609
	PBtotalaerobica SG2menos1	1.8107	14	.86250	.23051
Pair 3	PBtotalanaerobica SW1menos1	2.5714	14	.45940	.12278
	PBtotalanaerobica SW2menos1	2.2786	14	.83152	.22223
Pair 4	PBtotalanaerobica SG1menos1	2.4143	14	.55485	.14829
	PBtotalanaerobica SG2menos1	2.1500	14	.72244	.19308

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	PBtotalaerobica SW1menos1 - PBtotalaerobica SW2menos1	.13214	.45977	.12288	-.13332	.39761	1.075	13	.302
Pair 2	PBtotalaerobica SG1menos1 - PBtotalaerobica SG2menos1	.49286	.75418	.20156	.05741	.92831	2.445	13	.029
Pair 3	PBtotalanaerobica SW1menos1 - PBtotalanaerobica SW2menos1	.29286	.66618	.17804	-.09178	.67750	1.645	13	.124
Pair 4	PBtotalanaerobica SG1menos1 - PBtotalanerobica SG2menos1	.26429	.81558	.21797	-.20661	.73519	1.212	13	.247

Grupo de Delmopinol

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	PBtotalaerobica SW1menos1	2.4267	15	.84449	.21805
	PBtotalaerobica SW2menos1	2.1833	15	1.01712	.26262
Pair 2	PBtotalaerobica SG1menos1	2.4533	15	.78887	.20368
	PBtotalaerobica SG2menos1	2.1967	15	.99039	.25572
Pair 3	PBtotalanaerobica SW1menos1	2.4333	15	.77498	.20010
	PBtotalanaerobica SW2menos1	2.2067	15	1.05507	.27242
Pair 4	PBtotalanaerobica SG1menos1	2.4800	15	.59636	.15398
	PBtotalanerobica SG2menos1	2.3100	15	.88544	.22862

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	PBtotalaerobica SW1menos1 - PBtotalaerobica SW2menos1	.24333	.58519	.15110	-.08074	.56740	1.610	14	.130
Pair 2	PBtotalaerobica SG1menos1 - PBtotalaerobica SG2menos1	.25667	.63580	.16416	-.09543	.60876	1.563	14	.140
Pair 3	PBtotalanaerobica SW1menos1 - PBtotalanaerobica SW2menos1	.22667	.66329	.17126	-.14065	.59398	1.324	14	.207
Pair 4	PBtotalanaerobica SG1menos1 - PBtotalanerobica SG2menos1	.17000	.75871	.19590	-.25016	.59016	.868	14	.400

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

Comparação dos grupos experimentais de tratamento

Baseline

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
PBtotalaerobica SW1menos1	Between Groups	.353	2	.177	.294	.747
	Within Groups	27.644	46	.601		
	Total	27.997	48			
PBtotalaerobica SG1menos1	Between Groups	.202	2	.101	.193	.825
	Within Groups	24.028	46	.522		
	Total	24.230	48			
PBtotalanaerobica SW1menos1	Between Groups	.680	2	.340	1.044	.360
	Within Groups	14.985	46	.326		
	Total	15.665	48			
PBtotalanaerobica SG1menos1	Between Groups	.051	2	.026	.093	.911
	Within Groups	12.664	46	.275		
	Total	12.715	48			

Após período experimental

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
PBtotalaerobica SW2menos1	Between Groups	2.048	2	1.024	1.707	.194
	Within Groups	24.602	41	.600		
	Total	26.650	43			
PBtotalaerobica SG2menos1	Between Groups	2.181	2	1.091	1.584	.218
	Within Groups	28.235	41	.689		
	Total	30.416	43			
PBtotalanaerobica SW2menos1	Between Groups	1.174	2	.587	.765	.472
	Within Groups	32.218	42	.767		
	Total	33.392	44			
PBtotalanerobica SG2menos1	Between Groups	.275	2	.138	.199	.821
	Within Groups	29.104	42	.693		
	Total	29.379	44			

Componente Clínica

Avaliação dos dados de baseline

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
sexo	Between Groups	.089	2	.044	.173	.842
	Within Groups	22.400	87	.257		
	Total	22.489	89			
primeiro IG	Between Groups	.350	2	.175	.603	.550
	Within Groups	25.259	87	.290		
	Total	25.609	89			
primeiro turesky	Between Groups	.680	2	.340	.439	.646
	Within Groups	67.423	87	.775		
	Total	68.103	89			
idade a 1jan1008	Between Groups	728.156	2	364.078	2.416	.095
	Within Groups	13108.167	87	150.669		
	Total	13836.322	89			

Redução dos valores dos índices após o período experimental

Grupo Controlo

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	primeiro IG	1.197	30	.3459	.0632
	segundo IG	.730	30	.4145	.0757
Pair 2	primeiro turesky	2.287	30	.8533	.1558
	segundo turesky	1.750	30	.6852	.1251

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	primeiro IG - segundo IG	.4667	.2644	.0483	.3680	.5654	9.669	29	.000
Pair 2	primeiro turesky - segundo turesky	.5367	.3978	.0726	.3881	.6852	7.389	29	.000

Grupo de Óleos Essenciais

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	primeiro IG	1.047	30	.6224	.1136
	segundo IG	.487	30	.4681	.0855
Pair 2	primeiro turesky	2.487	30	.9737	.1778
	segundo turesky	1.680	30	.7439	.1358

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	primeiro IG - segundo IG	.5600	.4591	.0838	.3886	.7314	6.681	29	.000
Pair 2	primeiro turesky - segundo turesky	.8067	.5521	.1008	.6005	1.0128	8.003	29	.000

Grupo de Delmopinol

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	primeiro IG	1.147	30	.6033	.1101
	segundo IG	.483	30	.5038	.0920
Pair 2	primeiro turesky	2.323	30	.8054	.1471
	segundo turesky	1.617	30	.6828	.1247

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	primeiro IG - segundo IG	.6633	.4287	.0783	.5033	.8234	8.475	29	.000
Pair 2	primeiro turesky - segundo turesky	.7067	.3667	.0669	.5698	.8436	10.556	29	.000

Ensaio Clínico II

Caracterização da amostra

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
sexo * tratamento	60	100.0%	0	.0%	60	100.0%

sexo * tratamento Crosstabulation

			tratamento		Total
			listerine	fiodentário	
sexo	masculino	Count	3	9	12
		% within tratamento	10.0%	30.0%	20.0%
	feminino	Count	27	21	48
		% within tratamento	90.0%	70.0%	80.0%
Total		Count	30	30	60
		% within tratamento	100.0%	100.0%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	3.750 ^b	1	.053	.104	.052
Continuity Correction ^a	2.604	1	.107		
Likelihood Ratio	3.891	1	.049		
Fisher's Exact Test					
Linear-by-Linear Association	3.688	1	.055		
N of Valid Cases	60				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 6.00.

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
idade	Between Groups	1.067	1	1.067	.131	.719
	Within Groups	473.667	58	8.167		
	Total	474.733	59			

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

Redução de valores dos índices estudados

Para o grupo de fio dentário

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	índice gengival modificado 1	1.1740	30	.82155	.14999
	índice gengival modificado 2	.3927	30	.58686	.10715
Pair 2	índice de hemorragia 1	.1063	30	.13778	.02515
	índice de hemorragia 2	.0263	30	.05505	.01005
Pair 3	índice quigley hein turesky 1	2.0313	30	.60617	.11067
	índice quigley hen turesky 2	1.6470	30	.39628	.07235
Pair 4	índice gengival interproximal 1	1.2390	30	.81405	.14862
	índice gengival interproximal 2	.3957	30	.58623	.10703
Pair 5	índice hemorragia interproximal 1	.1703	30	.23203	.04236
	índice hemorragia interproximal 2	.0227	30	.04448	.00812
Pair 6	índice turesky interproximal 1	2.0440	30	.59274	.10822
	índice turesky interproximal 2	1.6543	30	.46763	.08538

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	índice gengival modificado 1 - índice gengival modificado 2	.78133	.59966	.10948	.55742	1.00525	7.137	29	.000
Pair 2	índice de hemorragia 1 - índice de hemorragia 2	.08000	.13282	.02425	.03040	.12960	3.299	29	.003
Pair 3	índice quigley hein turesky 1 - índice quigley hen turesky 2	.38433	.59143	.10798	.16349	.60518	3.559	29	.001
Pair 4	índice gengival interproximal 1 - índice gengival interproximal 2	.84333	.60965	.11131	.61568	1.07098	7.577	29	.000
Pair 5	índice hemorragia interproximal 1 - índice hemorragia interproximal 2	.14767	.22500	.04108	.06365	.23168	3.595	29	.001
Pair 6	índice turesky interproximal 1 - índice turesky interproximal 2	.38967	.52092	.09511	.19515	.58418	4.097	29	.000

Para o grupo de óleos essenciais

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	índice gengival modificado 1	.9623	30	.79073	.14437
	índice gengival modificado 2	.2790	30	.47471	.08667
Pair 2	índice de hemorragia 1	.1873	30	.29866	.05453
	índice de hemorragia 2	.0407	30	.07506	.01370
Pair 3	índice quigley hein turesky 1	2.0103	30	.58411	.10664
	índice quigley hen turesky 2	1.4163	30	.56223	.10265
Pair 4	índice gengival interproximal 1	.9780	30	.79502	.14515
	índice gengival interproximal 2	.2747	30	.47060	.08592
Pair 5	índice hemorragia interproximal 1	.1853	30	.29835	.05447
	índice hemorragia interproximal 2	.0390	30	.07317	.01336
Pair 6	índice turesky interproximal 1	2.0177	30	.55739	.10176
	índice turesky interproximal 2	1.2760	30	.66537	.12148

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	índice gengival modificado 1 - índice gengival modificado 2	.68333	.60114	.10975	.45886	.90780	6.226	29	.000
Pair 2	índice de hemorragia 1 - índice de hemorragia 2	.14667	.31260	.05707	.02994	.26339	2.570	29	.016
Pair 3	índice quigley hein turesky 1 - índice quigley hen turesky 2	.59400	.67486	.12321	.34200	.84600	4.821	29	.000
Pair 4	índice gengival interproximal 1 - índice gengival interproximal 2	.70333	.60874	.11114	.47603	.93064	6.328	29	.000
Pair 5	índice hemorragia interproximal 1 - índice hemorragia interproximal 2	.14633	.31314	.05717	.02940	.26326	2.560	29	.016
Pair 6	índice turesky interproximal 1 - índice turesky interproximal 2	.74167	.60071	.10967	.51736	.96597	6.762	29	.000

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

Comparação entre os grupos experimentais dos valores dos índices

Group Statistics

	tratamento	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
índice turesky interproximal 2	listerine	30	1.2760	.66537	.12148
	fiodentário	30	1.6543	.46763	.08538
índice gengival modificado 1	listerine	30	.9623	.79073	.14437
	fiodentário	30	1.1740	.82155	.14999
índice gengival modificado 2	listerine	30	.2790	.47471	.08667
	fiodentário	30	.3927	.58686	.10715
índice de hemorragia 1	listerine	30	.1873	.29866	.05453
	fiodentário	30	.1063	.13778	.02515
índice de hemorragia 2	listerine	30	.0407	.07506	.01370
	fiodentário	30	.0263	.05505	.01005
índice quigley hein turesky 1	listerine	30	2.0103	.58411	.10664
	fiodentário	30	2.0313	.60617	.11067
índice quigley hen turesky 2	listerine	30	1.4163	.56223	.10265
	fiodentário	30	1.6470	.39628	.07235
índice gengival interproximal 1	listerine	30	.9780	.79502	.14515
	fiodentário	30	1.2390	.81405	.14862
índice gengival interproximal 2	listerine	30	.2747	.47060	.08592
	fiodentário	30	.3957	.58623	.10703
índice hemorragia interproximal 1	listerine	30	.1853	.29835	.05447
	fiodentário	30	.1703	.23203	.04236
índice hemorragia interproximal 2	listerine	30	.0390	.07317	.01336
	fiodentário	30	.0227	.04448	.00812
índice turesky interproximal 1	listerine	30	2.0177	.55739	.10176
	fiodentário	30	2.0440	.59274	.10822

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
índice turesky interproximal 2	Equal variances assumed	7.147	.010	-2.548	58	.014	-.37833	.14848	-.67555	-.08112
	Equal variances not assumed			-2.548	52.030	.014	-.37833	.14848	-.67628	-.08039
índice gengival modificado 1	Equal variances assumed	.156	.695	-1.017	58	.314	-.21167	.20818	-.62839	.20506
	Equal variances not assumed			-1.017	57.915	.314	-.21167	.20818	-.62840	.20507
índice gengival modificado 2	Equal variances assumed	.838	.364	-.825	58	.413	-.11367	.13781	-.38953	.16219
	Equal variances not assumed			-.825	55.574	.413	-.11367	.13781	-.38978	.16245
índice de hemorragia 1	Equal variances assumed	3.541	.065	1.349	58	.183	.08100	.06005	-.03920	.20120
	Equal variances not assumed			1.349	40.808	.185	.08100	.06005	-.04029	.20229
índice de hemorragia 2	Equal variances assumed	2.221	.142	.843	58	.402	.01433	.01700	-.01969	.04835
	Equal variances not assumed			.843	53.199	.403	.01433	.01700	-.01975	.04842
índice quigley hein turesky 1	Equal variances assumed	.069	.794	-.137	58	.892	-.02100	.15369	-.32864	.28664
	Equal variances not assumed			-.137	57.920	.892	-.02100	.15369	-.32865	.28665
índice quigley hen turesky 2	Equal variances assumed	1.785	.187	-1.837	58	.071	-.23067	.12558	-.48205	.02072
	Equal variances not assumed			-1.837	52.110	.072	-.23067	.12558	-.48266	.02132
índice gengival interproximal 1	Equal variances assumed	.078	.781	-1.256	58	.214	-.26100	.20774	-.67685	.15485
	Equal variances not assumed			-1.256	57.968	.214	-.26100	.20774	-.67685	.15485
índice gengival interproximal 2	Equal variances assumed	.908	.345	-.882	58	.382	-.12100	.13725	-.39574	.15374
	Equal variances not assumed			-.882	55.409	.382	-.12100	.13725	-.39601	.15401
índice hemorragia interproximal 1	Equal variances assumed	.122	.728	.217	58	.829	.01500	.06900	-.12313	.15313
	Equal variances not assumed			.217	54.684	.829	.01500	.06900	-.12331	.15331
índice hemorragia interproximal 2	Equal variances assumed	3.477	.067	1.045	58	.300	.01633	.01563	-.01496	.04763
	Equal variances not assumed			1.045	47.860	.301	.01633	.01563	-.01510	.04777
índice turesky interproximal 1	Equal variances assumed	.005	.943	-.177	58	.860	-.02633	.14855	-.32369	.27102
	Equal variances not assumed			-.177	57.782	.860	-.02633	.14855	-.32371	.27105

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

Estudo Descritivo

Caracterização da amostra total

sexo

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid masculino	30	50.0	50.0	50.0
feminino	30	50.0	50.0	100.0
Total	60	100.0	100.0	

grupo etario

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid 15-24	22	36.7	36.7	36.7
25-44	27	45.0	45.0	81.7
45-64	10	16.7	16.7	98.3
65+	1	1.7	1.7	100.0
Total	60	100.0	100.0	

Caracterização da Amostra total – cruzamento por sexo

	primeira reacção a elixir	habito de experimentar alimentos diferentes	uso de elixir todos os dias	informação sobre elixir é importante	elixir com sabor agradável	mudanças na saúde oral pelo elixir
Mann-Whitney U	426.500	450.000	435.000	405.500	378.000	450.000
Wilcoxon W	891.500	915.000	900.000	870.500	843.000	915.000
Z	-0.469	0.000	-0.275	-0.720	-1.081	0.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	0.639	1.000	0.783	0.472	0.280	1.000

difícil usar pelo sabor	deixa mau gosto na boca	difícil usar devido a frequência	queima durante utilização	difícil usar devido a deixar anestesiado	altera o paladar	provoca manchas	melhor halito	vou continuar a usar
447.000	427.000	439.000	432.000	423.000	346.000	407.500	419.000	418.000
912.000	892.000	904.000	897.000	888.000	811.000	872.500	884.000	883.000
-0.046	-0.351	-0.170	-0.272	-0.413	-1.628	-0.752	-0.477	-0.483
0.964	0.726	0.865	0.785	0.680	0.104	0.452	0.633	0.629

bolos e bolachas	refrigerantes	rebuçados	chocolates	compotas	pão	cereais	doces ao deitar
344.500	377.000	415.000	433.500	447.500	238.000	448.500	421.000
809.500	842.000	880.000	898.500	912.500	703.000	913.500	886.000
-1.603	-1.098	-0.578	-0.252	-0.044	-3.280	-0.024	-0.661
0.109	0.272	0.563	0.801	0.965	0.001	0.981	0.509

Caracterização da Amostra total – cruzamento por grupo etário

Test Statistics(f,g)

	sexo	escolaridade	primeira reação a elixir	habito de experimental alimentos diferentes	uso de elixir todos os dias	vou continuar a usar
N	60	60	60	60	60	60
Median	1.50	3.00	1.00	2.00	1.00	4.00
Chi-Square	1.733	6.570	.576		1.351	.992
df	3	3	3		3	3
Asymp. Sig.	.630	.087	.902		.717	.803

Percepção sensorial

Ranks

	tratamento experimental	N	Mean Rank	Sum of Ranks
elixir com sabor	Listerine	30	25.62	768.50
agradável	decapinol	30	35.38	1061.50
	Total	60		

Test Statistics^a

	elixir com sabor agradável
Mann-Whitney U	303.500
Wilcoxon W	768.500
Z	-2.200
Asymp. Sig. (2-tailed)	.028

a. Grouping Variable: tratamento experimental

Ranks

	tratamento experimental	N	Mean Rank	Sum of Ranks
difícil usar pelo sabor	Listerine	30	30.70	921.00
	decapinol	30	30.30	909.00
	Total	60		

Test Statistics^a

	difícil usar pelo sabor
Mann-Whitney U	444.000
Wilcoxon W	909.000
Z	-.091
Asymp. Sig. (2-tailed)	.927

a. Grouping Variable: tratamento experimental

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

Ranks

	tratamento experimental	N	Mean Rank	Sum of Ranks
deixa mau gosto na boca	Listerine	30	34.57	1037.00
	decapinol	30	26.43	793.00
	Total	60		

Test Statistics^a

	deixa mau gosto na boca
Mann-Whitney U	328.000
Wilcoxon W	793.000
Z	-1.860
Asymp. Sig. (2-tailed)	.063

a. Grouping Variable: tratamento experimental

Ranks

	tratamento experimental	N	Mean Rank	Sum of Ranks
queima durante utilização	Listerine	30	25.45	763.50
	decapinol	30	35.55	1066.50
	Total	60		

Test Statistics^a

	queima durante utilização
Mann-Whitney U	298.500
Wilcoxon W	763.500
Z	-2.292
Asymp. Sig. (2-tailed)	.022

a. Grouping Variable: tratamento experimental

Ranks

	tratamento experimental	N	Mean Rank	Sum of Ranks
difícil usar devido a deixar anestesiado	Listerine	30	36.03	1081.00
	decapinol	30	24.97	749.00
	Total	60		

Test Statistics^a

	difícil usar devido a deixar anestesiado
Mann-Whitney U	284.000
Wilcoxon W	749.000
Z	-2.539
Asymp. Sig. (2-tailed)	.011

a. Grouping Variable: tratamento experimental

Ranks

	tratamento experimental	N	Mean Rank	Sum of Ranks
altera o paladar	Listerine	30	34.40	1032.00
	decapinol	30	26.60	798.00
	Total	60		

Test Statistics^a

	altera o paladar
Mann-Whitney U	333.000
Wilcoxon W	798.000
Z	-1.831
Asymp. Sig. (2-tailed)	.067

a. Grouping Variable: tratamento experimental

Percepção de imagem/efeito

Ranks

	tratamento experimental	N	Mean Rank	Sum of Ranks
mudanças na saúde	Listerine	30	28.23	847.00
oral pelo elixir	decapinol	30	32.77	983.00
	Total	60		

Test Statistics^a

	mudanças na saúde oral pelo elixir
Mann-Whitney U	382.000
Wilcoxon W	847.000
Z	-1.041
Asymp. Sig. (2-tailed)	.298

a. Grouping Variable: tratamento experimental

Efeito de um Elixir com Óleos Essenciais e de um Colutório com Delmopinol nas Bactérias da Placa Bacteriana

Ranks

	tratamento experimental	N	Mean Rank	Sum of Ranks
melhor halito	Listerine	30	24.73	742.00
	decapinol	30	36.27	1088.00
	Total	60		

Test Statistics^a

	melhor halito
Mann-Whitney U	277.000
Wilcoxon W	742.000
Z	-2.662
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008

a. Grouping Variable: tratamento experimental

Ranks

	tratamento experimental	N	Mean Rank	Sum of Ranks
provoca manchas	Listerine	30	32.42	972.50
	decapinol	30	28.58	857.50
	Total	60		

Test Statistics^a

	provoca manchas
Mann-Whitney U	392.500
Wilcoxon W	857.500
Z	-1.017
Asymp. Sig. (2-tailed)	.309

a. Grouping Variable: tratamento experimental

Avaliação de facilidade de uso

Ranks

	tratamento experimental	N	Mean Rank	Sum of Ranks
informação sobre elixir é importante	Listerine	30	34.20	1026.00
	decapinol	30	26.80	804.00
	Total	60		

Test Statistics^a

	informação sobre elixir é importante
Mann-Whitney U	339.000
Wilcoxon W	804.000
Z	-1.795
Asymp. Sig. (2-tailed)	.073

a. Grouping Variable: tratamento experimental

Ranks

tratamento experimental	N	Mean Rank	Sum of Ranks
difícil usar devido a frequência Listerine	30	30.50	915.00
decapinol	30	30.50	915.00
Total	60		

Test Statistics^a

	difícil usar devido a frequência
Mann-Whitney U	450.000
Wilcoxon W	915.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000

a. Grouping Variable: tratamento experimental